

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Células Madre Adultas, su papel en los procesos de renovación orgánica y
en el mantenimiento de la salud**

Monografía previa a la obtención del título de

Licenciado En Ciencias Biológicas

DANIEL RICARDO POVEDA ALMEIDA

Quito, 2015

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Licenciatura en Ciencias Biológicas, del Sr. Daniel Ricardo Poveda Almeida ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. Miryam Rivera

Directora de la monografía

Quito, 24 de abril del 2014

Agradezco a todos los integrantes de mi familia por su dedicación y apoyo permanente, en este y otros proyectos que he emprendido.

Deseo dejar expreso mi gran gratitud a Miryam Rivera por su apoyo, motivación y consejo.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. DESARROLLO TEÓRICO.....	9
4.1 CÉLULAS MADRE ADULTAS Y SU ACCIÓN EN EL ORGANISMO.....	9
4.2 SISTEMA CARDIO CIRCULATORIO.....	17
4.3 SISTEMA TEGUMENTARIO.....	26
4.4 SISTEMA NERVIOSO.....	27
4.5 SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	31
4.6 SISTEMA ENDÓCRINO.....	37
4.7 CÁNCER.....	40
4.8 TEORÍA DE REGENERACIÓN Y RENOVACIÓN CURATIVA	41
4.9 SUPLEMENTOS NUTRICIONALES QUE PUEDEN POTENCIAR LA ACCION DE LAS CELULAS MADRE ADULTAS.....	48

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
7. FIGURAS	65
8. TABLAS	71
9. ANEXOS.....102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática del concepto de reproducción asimétrica que caracteriza a las células madre.....	65
Figura 2. Diferentes fuentes de células madre.....	66
Figura 3. Número anual de publicaciones reportadas en la base de datos PubMed entre 2000 y 2014 con la frase “adipose stem cell in obesity”	67
Figura 4. Interacción potencial de las células madre derivadas de tejido adiposo y sus efectos sobre la regeneración de los nervios periféricos.....	68
Figura 5. Potencial de diferenciación de las células madre dentales adultos.....	69
Figura 6. Ubicación de las células madre dentales adultas en los seres humanos.....	70

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Abreviaciones utilizadas en el texto.....	71
Tabla 2. Comparación entre células madre embrionarias y adultas.	73
Tabla 3. Ejemplos de estudios, que han demostrado la topografía de superficies puede dirigir diferenciación de las células madre....	74
Tabla 4. Ejemplo de estudios que han demostrado que el uso de diferentes químicos pueden dirigir la diferenciación de las células madre.....	76
Tabla 5. Características de las poblaciones eCSC residentes identificados en el corazón	79
Tabla 6. Células madre adultas neuronales, métodos de aislamiento y de cultivo <i>in vitro</i>	81
Tabla 7. Resultados preclínicos de células madre neurales adultas contra enfermedades neurodegenerativas	84
Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos	85
Tabla 9. Estudios en animales con modelado de células madre derivadas de tejido adiposo y conductos para regeneración de nervios periféricos	93
Tabla 10. Ensayos clínicos usando células madre para terapias en retina, actualmente en desarrollo, registrado en ClinicalTrial.gov	94

Tabla 11. Células madre dentro del musculo esquelético. Localización, identificación y potencial	96
Tabla 12. Revisión bibliográfica del seguimiento de células madre dentro del disco intervertebral en modelos animales.....	98
Tabla 13. Resumen de algunos de los genes principales potencialmente envueltos en células madre de la pituitaria y la actividad de sus células progenitoras y/o en su diferenciación	99

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 Información de Stemtech: A nobel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from <u><i>Aphanizomenon flos-aquae</i></u> - potential role for stem cell biology in vitro and in vivo?.....	102
ANEXO 2 Información de Stemtech: A blend of and extract from <u><i>Aphanizomenon flos-aquae</i></u> , fucoidan from <u><i>Undaria pinnatifida</i></u> and an extract from <u><i>Polygonum multiflorum</i></u> leads to a significant mobilization of bone marrow stem cells.....	105
ANEXO 3 Glosario.....	107

1. RESUMEN

En los últimos años se ha despertado un gran interés por las posibilidades que ofrecen las células madre, tanto en investigaciones básicas de Biología del Desarrollo, como una fuente para remediar problemas de salud. Las células madre de tejidos adultos parecen tener la función de mantener y reparar los tejidos durante toda la vida. Su empleo y manipulación podría ofrecer terapias curativas para varias enfermedades no infecciosas, entre ellas algunas graves como Diabetes, Parkinson o producidas por una isquemia, así como varias malformaciones y enfermedades hereditarias. Este trabajo pretende realizar una revisión de varias publicaciones sobre el potencial regenerativo que poseen las células madre, centrándose en las capacidades que hayan sido reportadas para las células madre adultas. También se exploran los avances efectuados en dilucidar los controles genéticos, epigenéticos y de ubicación para mantener el poder de autorenovación de las células madre y dirigir la diferenciación de estas células en otros tejidos, así como las alternativas para manipular de manera artificial su diferenciación. Se revisa también la teoría de regeneración y renovación curativa mediada por las células madre adultas y las formas de potenciar esta función orgánica. Se presta particular atención a lo reportado por un grupo de investigadores, entre ellos Chistian Drapeau, que en sus trabajos han demostrado que *Aphaniozomenon flos-aquae* posee la capacidad de movilizar y potenciar las células madre adultas de médula ósea endógenas, y de esa manera se produce una mejora en la salud de muchas personas.

Palabras Clave: *Aphaniozomenon flos-aquae*, autorenovación, células madre adultas de medula osea endógena, regeneración, salud.

2. ABSTRACT

The interest about stem cells has increased in recent years due to the great advantages they present, in basic investigations as developmental biology, also as a new way to solve health problems. The stem cells of grown tissues appear to maintain and repair tissues among the entire life. Its use and manipulation could offer curative therapies for many not infectious diseases, among them some serious illness as Diabetes, Parkinson or produced by an ischemia, and also many malformations and hereditary diseases. This work pretends to present a review of many publications about the regenerative potential that this stem cells have, concentrating in the capacities that had been reported for the adult stem cells. Are also explored the advances made trying to elucidate the genetic controls, epigenetics and the position for maintaining the power of autorenewal in the stem cells and direct the differentiation of these cells in other tissues, also the alternatives for manipulating in an artificial way its differentiation. Are also checked the theory of curative regeneration and renewal mediated by grown stem cells and the different ways of maximizing this organic function. Particular attention is presented to the investigation that has been taken by a group of researchers, among them Christian Drapeau's, whose works had demonstrated that *Aphanizomenon flos-aquae* have the capacity that allows a migration of stem cells and maximize the endogenous bone marrow stem cell, having as a result the enhance of health of many people.

Keywords: *Aphanizomenon flos-aquae*, autorenewal, endogenous bone marrow stem cell, health, regeneration.

3. INTRODUCCIÓN

Se ha establecido un fuerte debate ético sobre el empleo de las células madre embrionarias (ESC). Estas consideraciones han limitado el empleo de este tipo de material para investigaciones clínicas (Huguet, 2004; Santos, 2004). Esto ha provocado un aumento de las investigaciones con las células madre de tejidos adultos. A las células no especializadas, que se auto replican mitoticamente por largos períodos de tiempo y que tienen la habilidad de diferenciarse en tipos celulares específicos, se les ha denominado células madre (SC), cuando estas se ubican dentro de un órgano o de un tejido formado se las denomina Células Madre Adultas (ASC), a pesar de que este término puede ocasionar alguna confusión, dado que se las encuentra en fetos, en el cordón umbilical, en un niño, un adulto o un anciano (En Tabla 1 se detallan las siglas empleadas).

Diversas investigaciones con ASC, han constatado una alta capacidad de diferenciación de estas células hacia tejidos diferentes a los de su origen. Esto ha despertado un gran interés sobre las posibilidades terapéuticas que el manejar y estimular las células indiferenciadas podría tener para enfrentar diferentes condiciones médicas. Se ha podido observar que ASC pueden regenerar diversos tejidos; existe evidencia que pueden diferenciarse hacia miocitos, cardiomiocitos, hepatocitos, osteocitos, condrocitos y aun en células del sistema nervioso central como células gliales e incluso neuronas (Hernández, 2009).

La amplia gama de acciones que parecen desarrollar la células madre de tejido adulto permite afirmar que “Los nuevos conocimientos contribuyeron significativamente a calificar a las SC humanas como el pilar central de la medicina regenerativa y que significaría una sustancial renovación de este tipo de medicina,

que algunos han valorado como nueva medicina regenerativa” (Hernández, 2009) (Ver el glosario para definiciones).

La medicina regenerativa, que tiene por objeto la restauración permanente de los tejidos y/u órganos dañados, está estrechamente vinculada a la biología de las SC. La medicina regenerativa, que incluye la terapia celular, se realiza en un entorno clínico donde las SC son aisladas, generalmente cultivadas y trasplantadas de nuevo en los pacientes, y la terapia génica, en la que las SC también se modifican genéticamente para curar una enfermedad genética. Los tejidos que poseen una marcada capacidad de auto-renovación, tales como sangre y epitelios, contienen una población de SC que es responsable de su generación y regeneración continua. Toda la integridad del tejido y su reparación depende de estas células (de Luca, 2006).

La posibilidad de curar con células está anunciando una nueva era terapéutica. Las fuentes celulares del ser humano adulto están progresando vertiginosamente, como queriendo señalar que la clave de la curación está en el propio organismo. Sin embargo, los logros alcanzados son aún muy escasos y es necesario profundizar en la investigación sobre las bases biológicas de la comunicación celular para poder trabajar eficazmente con ellas. Una gran cantidad de investigadores está trabajando en la aplicación de las nuevas estrategias de terapia celular sobre prácticamente todas las enfermedades conocidas. Pero hay 3 órganos sobre el que se han depositado grandes esperanzas: el cerebro, el hígado y el páncreas (García-Olmo *et al.*, 2006).

La investigación con SC está iniciando, y muy probablemente permitirá abordar tratamientos para muchas enfermedades de gran importancia para la

humanidad, en especial las relacionadas con el envejecimiento. Además, ofrecen esperanza en terapias reconstructivas. Una mejor comprensión de la biología y de las características propias de las células “normales” podría contribuir a un mejor entendimiento de las células cancerosas, lo que conduciría a una mejora en la prognosis y en los tratamientos con drogas contra el cáncer, pudiendo mejorar la precisión de la terapia química.

Asimismo, en relación a las ASC la investigación tiene como uno de los objetivos identificar y caracterizar las SC localizadas en los tejidos; cada vez se conoce un mayor número que las contiene. Comprender mejor los mecanismos normales de activación de los procesos de reparación de los daños en los tejidos probablemente abra el camino para controlar y dirigir la maquinaria innata de reparación, a través de: fármacos, citoquinas y factores de crecimiento. Se han visto indicios de tales mecanismos en investigaciones con diversos tejidos. Se están efectuando progresos en células gliales del sistema nervioso, lesiones de la médula espinal, cardiomiocitos, células de los islotes de Langerhans, tejido hematopoyético, hepatocitos. También pueden ser una valiosa herramienta en pruebas farmacológicas (EMBO, 2006).

Las ASC han despertado mucho interés en todos los niveles, al punto que el papa Benedicto XVI emitió un mensaje reconociendo su potencial (Smith *et al.*, 2013). En los países hispanohablantes existe un marcado interés, que se puede constatar con las numerosas publicaciones que existen sobre el tema, así en una primera revisión se puede mencionar los trabajos de: Prósper y Verfaillie, 2000; Prósper, 2002; Prósper y Herreros, 2004; Rodríguez-Pardo, 2005; García-Olmo y colaboradores, 2006; Flores-Figueroa, 2006; Gagliardi y colaboradores, 2007; Hernández, 2009; Taylor y Robertson, 2009; Macías-Abraham y colaboradores,

2010; Hernández, 2011; Ramírez y colaboradores, 2011, Valero-Palencia y colaboradores, 2011; Zapata y García, 2011; Salmen y colaboradores, 2013; Socarrás-Ferrer y colaboradores, 2013; Arvelo y colaboradores, 2014; Bartolucci y colaboradores, 2014; Valdespino-Gómez y colaboradores, 2014.

Un tipo particular de ASC ha despertado mucho interés, las células madre de la médula ósea de adultos (BMSC), ya que se ha acumulado abundante evidencia de sus notorias propiedades pluripotentes. Su plasticidad ha sorprendido y, hay quienes la comparan con la de las células madre embrionarias (ESC). Estas células residen dentro de los huesos planos y largos, en la médula ósea. Se piensa que en los mamíferos existe la capacidad de regeneración mediada por las BMSC, las que podrían movilizarse desde la médula ósea y vía circulación sanguínea llegar a un órgano diana y migrar dentro del lugar afectado para diferenciarse en un tipo celular específico, produciendo así la reparación morfológica y funcional del área deteriorada. Con esta base Jensen y Drapeau propusieron como hipótesis que la movilización en vivo de las BMSC y su migración a los distintos tejidos es un proceso fisiológico normal de regeneración y reparación cuyos beneficios terapéuticos podrían ser generados con regímenes menos invasivos que la extracción y re-insertación de SC, lo que podría lograrse a través de la estimulación de la migración normal de BMSC. Además propusieron realizar esfuerzos para identificar sustancias naturales que tengan la capacidad de aumentar este proceso normal de movilización y recolonización de las BMSC logrando un potencial tratamiento para diversas enfermedades degenerativas (Jensen y Drapeau, 2002).

Otro elemento a ser considerado es que las ASC al ingresar a un tejido lesionado pueden propiciar su regeneración a partir de la producción de factores solubles que actúan de manera paracrina, mejorando la recuperación de dicho

tejido y consecuentemente del órgano. Se ha comprobado que estas células pueden producir varios elementos que mejoran la respuesta inflamatoria, ejercen efectos de citoprotección, incrementan la proliferación, diferenciación, migración, y el establecimiento celular y quizás tienen otras funciones aún no conocidas (Gnecchi *et al.*, 2008).

Hay que destacar que las SC tienen un enorme potencial para poder desarrollar nuevos conocimientos biológicos, y ofrecer perspectivas tangibles de aplicación en varias enfermedades y situaciones clínicas; a través de este desarrollo, se abren nuevas esperanzas terapéuticas. Ellas ya han demostrado su valor en el tratamiento de ciertas enfermedades y de varios tipos de daño tisular. Ya han beneficiado a miles de personas. De igual manera, la investigación sobre SC conduce a la acumulación de información relevante, de crucial importancia, en diferentes campos del conocimiento, tan diversos como el cáncer y las enfermedades degenerativas. Es grande el potencial que la investigación y el desarrollo de la ciencia y la tecnología de las SC puede ofrecer a la medicina, la industria y en la economía, para lo que se requiere un apoyo financiero y político adecuado (EMBO, 2006).

Uno de los principales retos para el desarrollo de cualquier terapia celular, basada en SC, es el control de la diferenciación celular, es decir, asegurarse que se genere el tipo celular deseado, en lugar de cualquiera otra célula. Esto es importante, no sólo, para obtener el efecto clínico deseado, sino también para evitar el desarrollo de células de rápida proliferación y la consecuente formación de tumores (Frisén, 2006).

Se han realizado extensas investigaciones sobre la identidad y ubicación de las células madre; la identificación precisa de las células madre / progenitoras no es fácil. Además, dilucidar las funciones de estas SC en los procesos fisiológicos y fisiopatológicos es complicado y probablemente se ve confundida por el microambiente en que residen (Firth *et al.*, 2014). Hoy existe un gran empeño en dilucidar las particularidades de la ASC de cada órgano, lo que se puede observar en las abundantes publicaciones recientes que se ocupan de las ASC de cada órgano, así se puede mencionar: Appaix y colaboradores, 2014; de Souza y colaboradores, 2015; Firth y colaboradores, 201; Florio, 2014; Girolamo, 2014; Labusca y colaboradores, 2015; Lawrence y colaboradores, 2014; Rueger y Schroeter, 2015; Russo y colaboradores, 2014; Tharmapalan y Khokha, 2014; Virant-Klun y colaboradores, 2014.

4. DESARROLLO TEÓRICO

4.1 CÉLULAS MADRE ADULTAS Y SU ACCIÓN EN EL ORGANISMO

El término *célula madre* o *célula troncal* (*stem cell*) se utiliza para definir una célula indiferenciada con capacidad de autorregeneración, que puede dar lugar a diferentes líneas de células especializadas. Son células con capacidad de división asimétrica; al dividirse producen una réplica celular exacta de sí mismas y una célula con capacidad de realizar una función más especializada (Figura 1 y 2). Estas células se describieron inicialmente en el embrión y son el origen de todas las líneas celulares somáticas y germinales que conformarán el nuevo organismo, estas células madre embrionarias son totipotenciales. Sin embargo, desde el 2001 se han descrito células madre adultas (ASC), originarias de diferentes tejidos diferenciados, con capacidades muy similares (García-Olmo *et al.*, 2006). Las investigaciones con ASC y células madre embrionarias (ESC) han aumentado nuestro conocimiento sobre el desarrollo de los animales, de la biología del cáncer y prometen el desarrollo de alternativas terapéuticas para una variedad de dolencias que hoy carecen de opciones viables (García-Olmo *et al.*, 2006).

Es importante resaltar que la investigación con células madre (SC) puede brindar alternativas en terapias reconstructivas, ayudar a superar problemas hereditarios graves en: sangre, piel, hueso, músculo, hígado, sistema nervioso, vasculares, o de páncreas. Podría generarse tratamientos para la diabetes, la esclerosis lateral amiotrófica, o regenerar tejidos lesionados. Son prometedoras las posibilidades que se abren con manipulación de estas células *in vitro*, previo a su reintroducción, logrando su multiplicación, mantenimiento, acondicionamiento, y aun la manipulación genética para “corregirlas”, en dicho caso podría requerirse

procesos diferentes al empleo de vectores virales, que se ha utilizado hasta el momento, para tener una aceptación más amplia y menores riesgos en sus aplicaciones clínicas (EMBO, 2006).

Así, investigaciones recientes han demostrado que la mayoría de los tejidos adultos albergan células con capacidad para regenerar tejido, varios experimentos han comprobado que SC de tejidos adultos tienen capacidad de transdiferenciarse, es decir, que son capaces de dar lugar a múltiples líneas celulares de las 3 capas embrionarias, por lo que estas células pueden ser consideradas verdaderas células pluripotenciales. Un buen ejemplo de ello es que a partir de células madre de médula ósea (BMSC) se han obtenido líneas celulares como condrocitos, miocitos o neuronas. (García-Olmo *et al.*, 2006). Al día de hoy el uso de ESC está muy alejado de la clínica humana, por lo que la única fuente celular en la medicina regenerativa actual son los tejidos del propio ser humano adulto; existen 5 fuentes de SC de uso clínico que citamos brevemente: médula ósea, sangre periférica, cordón umbilical, biopsia muscular y grasa, lipoaspirados (García-Olmo *et al.*, 2006).

Se ha pensado que las ESC podrían ser un gran aporte en la regeneración de tejidos en una variedad de circunstancias. Por su elevado potencial de proliferación pueden constituir una provisión interminable de células humanas para estudios de desarrollo celular y de enfermedades y para pruebas farmacológicas. Ensayos en modelos de Parkinson inducido en ratas, han demostrado el potencial de reemplazo de células del sistema nervioso. La investigación en ASC y ESC están mutuamente correlacionadas y los progresos que se logren serán beneficiosos para estas dos líneas, logrando un mejor crecimiento y diferenciación (EMBO, 2006). Para una comparación entre ESC y ASC ver Tabla 2.

En general, el efecto regenerativo de las SC es debido a la proliferación y diferenciación de dichas células en el tejido deseado. En algunos casos, sin embargo, el trasplante de células puede tener efectos beneficiosos indirectos debidos a señales anti-inflamatorias y de crecimiento que las células introducidas emiten - el llamado efecto del "espectador". Se requiere investigaciones a fin de aclarar cómo las células introducidas interactúan con el tejido hospedero, y cuál es la esencia de su poder regenerativo. Basado en estas investigaciones se podrá desarrollar terapias, quizás algunas requieran de la introducción de dos o más tipos de células a fin de tener un beneficio clínico óptimo. En otros casos, puede ser más eficaz administrar citoquinas en lugar de, o además de, la introducción de SC (EMBO, 2006).

Existe un gran interés en desarrollar células madre pluripotentes a partir de las células diferenciadas, debido a que no se conocen las posibilidades de diferenciación de las ASC. En esta vía, una línea experimental en desarrollo es la de transferencia nuclear de células somáticas (SCNT), tratando de alcanzar un grado alto de capacidad de diferenciación, pluripotencialidad, similar a la que manifiestan las ESC obtenidas de las fases tempranas de desarrollo embrionario. La ESC tienen el inconveniente de ser muy difíciles de controlar y no existe certeza de su estabilidad en un estado parcial o completamente diferenciadas (García-Olmo *et al.*, 2006). El comprender de mejor manera los mecanismos naturales de reparación celular nos permitan activarlos y posibilitar la regeneración de los tejidos, con sus propias SC, donde estas existan.

Las ASC específicas de un tejido, generalmente están en un estado quiescente, sólo un pequeño porcentaje están dividiéndose activamente para satisfacer la necesidad de sustitución homeostática. Una cantidad significativa de

células madre puede ser reclutada en respuesta a una lesión. La reproducción activa se da para reponer las células diferenciadas afectadas y para mantener un número crítico de células madre. Dado su enorme potencial, la comprensión de cómo se controlan los destinos de las células madre se ha convertido en un área de intensa investigación. Sin embargo, nuestra capacidad de expandir las células madre *ex vivo* con fines terapéuticos está todavía poco desarrollada, probablemente debido a la falta de comprensión de los factores críticos que mantienen su pluripotencia. Gran parte de nuestra comprensión de la regulación de las SC provienen de estudios del sistema hematopoyético, incluyendo el concepto de “nicho” para las SC; el que está formado por un microambiente especializado en mantener las SC en un estado pluripotente. En él se incluyen los componentes celulares, topográficos y de secreciones que influyen en el destino de las células madre (Ramakrishnan *et al.*, 2014).

Destaquemos que existen tratamientos clínicos de trasplante de SC que han beneficiado a miles de pacientes, especialmente de células madre de médula ósea (BMSC), de piel en casos de quemaduras y muchos ojos han recuperado la visión, en ciertos casos de lesión en la córnea. El trasplante tradicional no funciona adecuadamente, porque éste no se regenera a sí mismo como lo hace el tejido normal, la presencia de SC puede superar este problema. Experimentos en ratones mostraron que después de una irradiación destructiva, todo el sistema sanguíneo podía ser regenerado por un trasplante de BMSC. El primer éxito, medido por la supervivencia a largo plazo del paciente, como resultado de un trasplante de médula ósea humana se llevó a cabo en 1956 por el Dr. E. Donnall Thomas, en Nueva York, una víctima de leucemia, cuya médula ósea había sido destruida por radioterapia; esta prueba inicial se convirtió en una aplicación clínica para salvar

vidas. Otro avance importante se realizó en 1968 con el primer trasplante de médula ósea utilizando un donante emparentado para el tratamiento distinto al cáncer y en 1973 el primer trasplante de médula ósea de un donante no emparentado (EMBO, 2006). De las ASC se conoce que son poco frecuentes dentro de varios tejidos adultos y aún no se tiene suficientes conocimientos sobre su identidad, frecuencia de ocurrencia y función exacta (García-Olmo *et al.*, 2006).

Una posibilidad muy tentadora, de los tratamientos con SC, es la de corregir defectos genéticos que manifiestan su efecto en un tejido particular o en una subpoblación celular. Usar SC corregidas genéticamente y así reparar los genes defectuosos en el paciente, es una alternativa atractiva. Para este efecto se cuenta con el método clásico de emplear vectores virales para reparar el gen *in situ*. SC corregidas genéticamente están demostrando su valor en ensayos clínicos, al menos en un trastorno hereditario gravemente debilitante de la piel (EMBO, 2006).

Debemos considerar a las SC como un recurso experimental en sí mismo. Pueden permitir entender mejor el cáncer, la Biología del Desarrollo, la Farmacología, enfermedades degenerativas y el mantenimiento de la función fisiológica normal, por mencionar unos pocos temas. Dado que las SC se pueden diferenciar en varios tipos de células, que se encuentran en nuestros cuerpos, representan un material ideal para el ensayo de productos farmacéuticos: probando efectos terapéuticos sobre células específicas, valorando efectos secundarios no deseados, y para la descomposición de los fármacos por las células hepáticas. En principio, las SC derivadas de una persona podrían proporcionar un perfil individual de la respuesta y la toxicidad de un medicamento dado, este posible uso de las SC tiene un enorme potencial de aplicación, con un impacto significativo en la seguridad de los medicamentos. Otro posible uso es la investigación de las

enfermedades huérfanas, para las que hay pocos enfermos y una baja disponibilidad de muestras clínicas, lo que se puede realizar con la técnica de transferencia nuclear de células somáticas (SCNT) a embriones enucleados y así tener líneas celulares con un genoma específico (EMBO, 2006).

García-Olmo y colaboradores indican que la capacidad de algunas células del estroma de la médula ósea para diferenciarse en otras líneas celulares no hematopoyéticas está hoy bien documentada. Varios autores, han demostrado que estas células pueden diferenciarse *in vitro* y evolucionar a osteoblastos, condrocitos o adipocitos en función de los factores de crecimiento que se utilice para estimularlas. También es interesante la posibilidad de que estas células, tras entrar en la circulación, puedan migrar a otros lugares del cuerpo donde pueden diferenciarse y reparar tejidos dañados. Puede que en el futuro el tratamiento consista únicamente en usar citoquinas para incrementar la salida a la circulación de las BMSC, tal como han mostrado prometedores resultados en modelos murinos. Por otro lado, no debe olvidarse que el uso de citoquinas, como factores estimulantes de colonia, se ha visto asociado a efectos secundarios aún hoy difíciles de predecir. Para obtener poblaciones celulares de la médula ósea es necesario realizar varias punciones bajo anestesia que comportan molestias y riesgos. Desde 1980 ha sido posible movilizar estas células a la sangre periférica, donde pueden ser recogidas por aféresis, un procedimiento que es más práctico, menos doloroso y está asociado a un menor riesgo que las punciones. Por otro lado, se ha comunicado que las SC procedentes de sangre periférica desarrollan el injerto de neutrófilos y plaquetas más rápidamente, reduciendo el riesgo de infección o hemorragia (García-Olmo *et al.*, 2006).

De esta manera, el uso de las células vivas como agentes terapéuticos constituye el campo de la terapia celular. En la clínica actual hay algunos ejemplos muy exitosos de su potencial clínico, tales como el trasplante de médula ósea o los implantes de piel para el tratamiento de quemaduras graves, los cuales se realizan gran eficacia, por varias décadas. Actualmente están en desarrollo terapias en lesiones articulares, enfermedades intestinales inflamatorias, enfermedades cardíacas, regeneración nerviosa, regeneración medular, enfermedades neurodegenerativas y diabetes, entre otras. Más recientemente ha visto la luz un nuevo ámbito de la biotecnología; la ingeniería tisular, en la que se combinan varios aspectos de la medicina, la biología celular y molecular, la ciencia y la ingeniería de materiales con el fin de regenerar, reparar o sustituir tejidos humanos (García-Olmo *et al.*, 2006).

Los avances realizados en la tecnología de Biomateriales proveen un significativo desarrollo de nuevas tecnologías, que superan los inductores químicos que se han empleado. Se han acumulado pruebas para demostrar que el destino de SC podría ser regulada por la topografía superficial y química y por claves moleculares entregados mediante biomateriales. Existen varias pruebas de materiales capaces de dirigir el destino de SC; estos están siendo diseñados para imitar las claves que las SC reciben *in vivo*, en su nicho, incluyendo las instrucciones topográficas y químicas. Así, pistas nanotopográficas que imitan la matriz extracelular *in vivo*, han demostrado su capacidad de regular la diferenciación de células madre. La entrega de los componentes de la matriz extracelular en biomateriales, en forma de secuencias cortas de péptidos, ha demostrado éxito en direccionar el linaje de SC. También se han entregado, en los biomateriales, factores de crecimiento responsables de controlar el destino de

células madre *in vivo* y se ha proporcionado pistas genéticas, incluyendo plásmidos de ADN y pequeños ARN interferentes a través de andamios, fabricados expresamente. Es evidente que este campo de investigación todavía está emergiendo pero hay una gran promesa de que el destino de células madre podría ser controlado mediante la creación de biomateriales avanzados, que son sensibles a su entorno para las aplicaciones previstas. Un detalle de las investigaciones sobre esto pueden observarse en las Tablas 3 y 4 (Griffin *et al.*, 2015).

Varios trabajos de investigación se han efectuado para dilucidar la participación del splicing alternativo en los procesos de diferenciación, este mecanismo tiene un impacto fundamental en la diferenciación de células madre mediante la regulación central de las distintas isoformas de los factores de transcripción de pluripotencia, así como en la auto-renovación y en la especificación de linaje (Cheng *et al.*, 2015). Dadas las propiedades ontogenéticas y las propiedades biológicas celulares únicas de las células madre perinatales, la evidencia emergente ha sugerido que estas SC derivadas de tejidos extra embrionarios son una fuente de células prometedoras para un amplio uso en medicina regenerativa e ingeniería de tejidos (Si *et al.*, 2015). Otro camino interesante a tener en cuenta es el hecho que la comprensión de la biología de la SC derivadas del tejido adiposo, puede llevar al uso adecuado de estas células en la medicina regenerativa y proporcionará nuevos conocimientos terapéuticos sobre la obesidad y la recuperación del peso. Es necesario comprender tanto su fisiología normal como patológica, esto despierta mucho interés como se puede ver la Figura 3 que reseña los estudios publicados sobre SC de grasa y obesidad (Baptista, 2015).

4.2 SISTEMA CARDIO CIRCULATORIO

Mucho del conocimiento que tenemos sobre las células madre se ha generado a partir del sistema sanguíneo y sus órganos relacionados como el corazón o los vasos sanguíneos, tanto por su accesibilidad cuanto por su importancia. Todos los días se produce un número enorme de células sanguíneas maduras, a partir células madre hematopoyéticas (HSC). A través de extensos procesos de diferenciación celular, las HSC generan todos los tipos de células de la sangre, como son los glóbulos rojos, macrófagos, leucocitos y plaquetas. Es el sistema de diferenciación celular y de trasplante más estudiado y aplicado clínicamente. La investigación en este campo ha sido constante durante varias décadas y ha contribuido a la mejora de las terapias de reemplazo celular para deficiencias genéticas y enfermedades malignas relacionadas con la sangre. Entre los retos a superar se incluyen: 1) La expansión *ex vivo* de las HSC para uso clínico en trasplantes autólogos, (auto-derivado) y alogénicos, (no propios) 2) Conocer los programas moleculares de las SC, para una eficiente manipulación de las células normales y leucémicas; 3) La estimulación de la generación de HSC embrionarias. La diferenciación de HSC en células especializadas se produce por la estimulación de factores de crecimiento hematopoyético. Estos factores se han identificado y se utilizan de forma rutinaria en la práctica clínica para estimular la hematopoyesis y movilizar las HSC hacia la circulación. Sin embargo, se sabe muy poco sobre los factores de auto-renovación, que es el proceso por el cual las HSC se dividen para producir células que retienen el potencial de SC (Dzierzak, 2006).

Puesto que las HSC residen en un entorno particular, es de gran interés conocer el ambiente que mantienen las características de SC. Las células no hematopoyéticas que las rodean, son derivadas de células madre mesénquimales,

también llamadas células estromales, y pueden originar osteocitos, adipocitos, condrocitos, músculo liso y células vasculares. Una mejor comprensión del ambiente y de estas células, podrá crear tratamientos y mejorar las terapias existentes. Recientemente se ha realizado algunos avances en la identificación del origen de las HSC durante el desarrollo embrionario, lo que puede mejorar la comprensión de los mecanismos de regulación y en consecuencia del manejo terapéutico (Dzierzak, 2006).

Hasta el momento no se cuenta con los procedimientos adecuados para tener el suficiente número de células hematopoyéticas diferenciadas y de manera consistente como para que sean una fuente confiable para trasplantes y una herramienta terapéutica. Al tener el sistema hematopoyético una gran complejidad, ser dinámico y altamente proliferativo, es necesario aumentar los conocimientos de éste para dirigirlo sin provocar un agotamiento o un exceso, que puedan ser más perjudiciales que benéficos (Dzierzak, 2006).

Las enfermedades cardiovasculares atacan a un gran número de personas en el mundo; las SC permiten vislumbrar nuevas opciones de tratamiento para estas dolencias, sean ocasionadas por infartos agudos de miocardio (AMI) o por enfermedades crónicas de las arterias coronarias. Se han realizado pruebas prometedoras con el suministro de células madre de medula ósea (BMSC) por vía de la arteria coronaria, o implantadas directamente en el músculo del corazón, durante cirugía de bypass coronario. La mejoría posterior al tratamiento podría ser resultado de la transdiferenciación de la BMSC o por el efecto reparador de citoquinas en las células circundantes, producidas por las células injertadas, o que éstas atraigan a SC cardíacas endógenas (Brehm y Strauer, 2006). La creencia de que el corazón no tiene la capacidad de repararse a sí mismo está ahora

descartándose. Varios ensayos clínicos con trasplante de SC han demostrado el efecto beneficioso de esta terapia en una enfermedad del corazón, con una regeneración visible. Es necesario un mayor conocimiento de los procesos de: migración celular, proliferación, fusión celular, así como de los efectos de las hormonas de crecimiento y otras señales químicas liberadas en el proceso de regeneración de tejido cardíaco, por acción de SC (Brehm y Strauer, 2006).

Las BMSC son capaces de dividirse y transformarse en varios tipos de células cardíacas funcionales, dependiendo de su entorno, así, por ejemplo, células endoteliales, células musculares lisas y cardiomiocitos, aunque este efecto sólo se ha constatado en poca cantidad. La aplicación terapéutica de SC provee beneficios también por la liberación de citoquinas intracelulares y factores de crecimiento, que actúan previniendo la "apoptosis", muerte celular, de las células cardíacas en la zona fronteriza del infarto. Además, a través de la aplicación local de SC se puede lograr una alta concentración de citoquinas derivadas de SC en la zona infartada. Las citoquinas producen la migración de las SC cardíacas endógenas de sus nichos en el corazón, por ejemplo, de la aurícula y el ápex del ventrículo izquierdo, a las áreas dañadas de miocardio (Brehm y Strauer, 2006).

Varios estudios en animales y unos pocos estudios clínicos en humanos, han confirmado la existencia de una nueva miogénesis y vasculogénesis en el corazón infartado, luego de la aplicación de BMSC autólogas. Corazones que han sufrido un AMI o una enfermedad coronaria crónica se han beneficiado de trasplante autólogo de BMSC. Los procesos regenerativos son un tema de intensa investigación, para procurar una mejor comprensión de los mecanismos moleculares, celulares y bióticos que los gobiernan (Brehm y Strauer, 2006). Las SC derivadas del músculo cardíaco y de células endoteliales reducen los síntomas

clínicos, tales como angina de pecho y disnea, respiración difícil o laboriosa, y permiten aumentar la actividad diaria, y la calidad de vida en las personas con enfermedades cardíacas. El crecimiento del músculo del corazón, por la estimulación farmacéutica de células madre endógenas cardíacas residentes (eCSC), puede ofrecer una alternativa no invasiva para la reparación de miocardio. La movilización inducida por citoquinas de las BMSC puede ofrecer una técnica alternativa para la regeneración de miocardio, pero la posibilidad de un estrechamiento coronario relevante pesa contra este tipo de acción (Brehm y Strauer, 2006).

Para el tratamiento de enfermedades cardíacas es importante evaluar tres aspectos diferentes de la aplicación de SC para lograr la regeneración de miocardio: (I) diferentes vías de aplicación para el trasplante de BMSC autóloga, preferiblemente por la técnica intracoronaria, (II) estímulo de la miogénesis y la vasculogénesis a partir de SC cardíacas endógenas residentes en el mismo corazón, y (III) movilización de las eCSC por citoquinas producidas por BMSC (Brehm y Strauer, 2006), quienes indican que Strauer y colaboradores fueron los primeros en inyectar BMSC autólogas durante el cateterismo de rutina en una arteria coronaria reabierta, arteria coronaria anterior izquierda descendente, en un paciente con infarto de la pared anterior en marzo de 2001. El resultado fue una recuperación definitiva del movimiento de la pared anterior, la perfusión de la pared anterior y de la función global de bombeo del corazón. En más estudios clínicos de pacientes con infarto agudo se ha confirmado un beneficio de usar BMSC autóloga, tanto después de 3 meses como luego de 24-36 meses. En una pequeña minoría de los estudios este efecto no se manifiesta tan claramente. En seguimientos a largo plazo, se han reportado mejorías, aun 3 años después, en otros, en cambio,

la mejoría inicial no se mantuvo más alta que la de los grupos control, sin trasplante (Brehm y Strauer, 2006).

El miocardio adulto alberga una población de eCSC, que se encuentra en los llamados nichos en el corazón. La manipulación de estas células *in situ* y *ex vivo* ha abierto nuevas vías terapéuticas para la regeneración miocárdica, tanto anatómica como funcional. El envejecimiento y la senescencia de las eCSC determinan su función y capacidad de regeneración (Ellison *et al.*, 2014). Ensayos clínicos han demostrado una mejora de la función cardíaca luego de trasplantes de células derivadas de la médula ósea (BMDC), pese a que no exista una plena consistencia de resultados en diferentes ensayos. El mecanismo subyacente por el cual las BMDC promueven la regeneración sigue siendo estudiado, aunque se acepta que secretan factores de crecimiento y citoquinas, que contribuyen positivamente a la regeneración local, actuando principalmente por acción paracrina, que a su vez estimula los procesos de angiogénesis, mejora la supervivencia de los miocitos, disminuye la apoptosis y la fibrosis. También produce una activación de eCSC, con la consecuente formación de miocitos. Se ha demostrado que las MSC exudan una amplia gama de citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento, que pueden estar implicados en la reparación cardíaca. Los estudios también han demostrado que los factores paracrinicos asociados-BMDC son capaces de estimular efectos cardioprotectores a través de la regulación de micro RNA (miRNA) cardíacos. Además, se ha encontrado que medios condicionados por BMDC mejoran la función cardíaca en ratas post-IM. Mientras el debate científico continúa sobre el modo de acción de las BMDC, los estudios experimentales han puesto de manifiesto, su potencial como fuente de células

autólogas con aplicación terapéutica debido a su accesibilidad, facilidad de propagación y la capacidad de reparación (Ellison, 2014).

La marcada mejoría de las terapias con BMSC en el miocardio no se da únicamente por la sustitución directa del tejido cardíaco dañado, sino también por la acción conjunta de éstas con el tejido cardíaco y de nuevas células musculares propias del corazón. Pueden actuar estimulando las eCSC, por la producción de citoquinas cardiotróficas, que apoyen la supervivencia de las células del músculo, o modular la respuesta inmune que se produce tras el daño del corazón. Ciertamente parece que el músculo del corazón adulto tiene la capacidad de repararse a sí mismo. En estudios experimentales se ha demostrado que las eCSC pueden ser atraídas por ciertas citoquinas, factores cardiotróficos, cuando se inyectan en el corazón. Este enfoque es menos invasivo, sin embargo, requiere de mayor investigación (Brehm y Strauer, 2006).

Quizás el enfoque menos complicado para generar una terapia de miogénesis es mejorar el proceso de movilización de BMSC con la ayuda de la aplicación sistémica de los denominados factores quimioatrayentes. Esto aumenta la movilización a la sangre periférica de las HSC, MSC y BMSC comprometidas en linaje cardíaco. A continuación, las SC en circulación pueden migrar a la zona dañada del corazón. Este enfoque fue presentado primero en 2002 por Anversa y colaboradores. La aplicación sistémica de factores quimotácticos (quimocinas), tales como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), o el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), promueven: (I) la migración de BMSC al músculo del corazón infartado, y (II) la proliferación de células madre derivadas de médula ósea en el músculo cardíaco para la reparación y recuperación funcional del corazón después de un IM. Estudios en humanos, sólo

han reportado un ligero efecto beneficioso de las inyecciones de G-CSF (Brehm y Strauer, 2006).

El principal reto para el desarrollo de cualquier terapia basada en SC para enfermedades del corazón es el control de la migración celular, proliferación y diferenciación *ex vivo* así como *in vivo*, es decir, la consecución de una alta proporción de células progenitoras comprometidas a linaje cardíaco sin la producción de otros tipos de células no deseadas. Esto es importante para mejorar el efecto clínico alcanzado hasta el momento, y también para el trasplante de estas células, especialmente en pacientes de edad avanzada que tienen un reservorio de SC reducido en su médula ósea (Dimmeler y Leri, 2008). La evaluación de los efectos clínicos y experimentales en animales modelos o ensayos clínicos, es difícil por la complejidad de los mecanismos involucrados. La diferenciación de las SC tiene que ser controlada, a fin de evitar que se generen células no deseadas. Es importante continuar con estudios clínicos de seguimiento del destino de las SC, de su ubicación e identidad exacta (Brehm y Strauer, 2006). Hoy se tiene amplia información de eCSC, de su localización, los marcadores que las identifican y sus potencialidades. Podemos ver un resumen de estas características en la Tabla 5 (Ellison *et al.*, 2014).

La integridad y la actividad funcional de la monocapa endotelial, el revestimiento interior de la pared de los vasos sanguíneos, endotelio, juega un papel crucial en la prevención de la aterosclerosis y en la formación de nuevos vasos sanguíneos luego de una obstrucción de los vasos y la consiguiente falta de oxígeno a un tejido, isquemia. La integridad de la monocapa endotelial parece ser mantenida por células progenitoras endoteliales circulantes, que aceleran la reparación del revestimiento, re-endotelización, y limitan la formación de lesiones

ateroscleróticas. Las células madre circulantes (PBSC), adicionalmente, pueden incorporarse en los sitios con lesión, y contribuir a la formación de nuevos vasos sanguíneos (Dimmeler, 2006). Un daño en la monocapa endotelial por la eliminación mecánica del endotelio, por ejemplo, mediante la ampliación de un globo con un catéter o la inserción de un stent semi-rígido o por la inflamación de las células endoteliales, induce una cascada de eventos proinflamatorios, resultando en la infiltración de células inmunológicas y la proliferación de células musculares lisas. Estos procesos culminan en la formación de lesiones ateroscleróticas, que pueden causar la ruptura de la placa y, finalmente un IM. Por lo tanto, el mantenimiento del endotelio es vital para prevenir los sucesos iniciales, que pueden conducir a un AMI y a la enfermedad cardíaca coronaria (Dimmeler, 2006).

Actual evidencia sugiere que los factores de riesgo para la enfermedad coronaria aumentan la muerte programada, apoptosis, de las células endoteliales (CE), lo que conduce a una perturbación de la monocapa endotelial. A demás se ha visto que la monocapa endotelial lesionada puede ser regenerada por HSC de médula ósea circulantes, que generan rápidamente CE, mejorando la regeneración vascular. Se ha observado que los factores de riesgo de la aterosclerosis, como la edad y la diabetes reducen el número de células progenitoras endoteliales, existiendo una sugerente coincidencia entre las situaciones de riesgo para la enfermedad arterial coronaria, con el deterioro de la capacidad de reparación endotelial y las PBSC. Esta hipótesis se apoya en hallazgos recientes en que la medición de PBSC circulantes puede predecir el desarrollo de enfermedad arterial coronaria en los pacientes (Dimmeler y Leri, 2008).

Se realizan varios esfuerzos para lograr la caracterización e identificación de las células progenitoras endoteliales. Varios estudios proporcionan evidencia convincente de que las células progenitoras endoteliales pueden derivarse de HSC que expresan las proteínas marcadoras CD133 o CD34, y se utilizan para identificar y medir las células progenitoras endoteliales en los seres humanos, por ejemplo, CD34/KDR, CD133/KDR. Sin embargo, eso no excluye la presencia de células progenitoras endoteliales derivadas de otras fuentes dentro de la médula ósea; por ejemplo, células madre mesenquimales o células madre residentes en el propio tejido; también las células intermedio mieloides, las que maduran en células blancas de la sangre, pueden tener la capacidad de contribuir a la reparación endotelial (Dimmeler, 2006).

Considerando que el tratamiento con SC produce aumento de la vascularización, se despierta el temor que pueda aumentar el crecimiento de tumores; sin embargo, resulta llamativo que estudios en ratones hayan producido una disminución del crecimiento de los mismos. La contribución de las células madre endoteliales en la formación de vasos sanguíneos en los tumores puede depender del tipo de tumor. La medición de células progenitoras endoteliales circulantes podría ser útil para el seguimiento de las respuestas a las terapias anti-tumorales (Dimmeler, 2006).

Una de las mayores inconsistencias en tratamientos con SC en problemas circulatorios se da en cuanto a la tasa de incorporación de PBSC dentro del tejido endotelial vascular, que muestran un rango de 0 a 100% en los vasos recién formados. La incorporación puede variar por el origen de las SC utilizadas, por el modelo experimental, la extensión de la lesión, el tipo de tumor u otros factores. También debe considerarse que los efectos observados pueden originarse tanto

por la incorporación y diferenciación de las células en el endotelio, como por la liberación de factores paracrinós liberados por las SC, los que a su vez favorezcan la formación de vasos sanguíneos y la reparación tisular. Asimismo, las SC podrían incorporarse en la pared del vaso para estabilizar la regeneración y maduración observada. No puede descartarse la intervención de otros tipos de células, como las de linaje mieloide, que suelen originar los glóbulos blancos (Dimmeler, 2006).

4.3 SISTEMA TEGUMENTARIO

Recientemente se ha hecho un progreso excepcional en la comprensión de cómo las células madre epiteliales se transforman en tejidos como la piel. Un tipo de ASC de la epidermis, conocido como "holoclone", ha mostrado ser una gran promesa terapéutica. En primer lugar, los holoclones son multipotentes - es decir, pueden (re)generar todos los tipos de células de su tejido de origen. Además, son capaces de restaurar permanentemente el epitelio cuando se injertan en pacientes con daños o defectos epiteliales masivos. Esto es, en parte, un producto de sus fenomenales propiedades de auto-renovación y de su resiliencia. Holoclones humanos pueden ser recuperados de la piel y regenerados años después del injerto inicial. Estas células muy especiales pueden resistir el proceso normal de acortamiento cromosómico que conduce al envejecimiento en las células normales, y tienen una enorme capacidad proliferativa. Un solo holoclone puede multiplicarse para producir el área total de superficie de la piel de un ser humano (de Luca, 2006).

Adicionalmente, cuando se cultivan queratinocitos humanos pueden producir epitelio estratificado, con características de la piel real. Se ha empleado trasplante de cultivos de queratinocitos autólogos para regenerar epidermis funcional en pacientes con quemaduras graves; esta piel regenerada es permanente. Se han

realizado seguimientos de veinte años de duración, lo que equivale a 200 ciclos de renovación, dado que la piel se renueva mensualmente (de Luca, 2006). Pacientes con vitiligo han sido tratados con éxito con sus propios melanocitos cultivados en laboratorio, en éstos los melanocitos injertados persisten durante al menos siete años. Los melanocitos humanos normales crecen y se dividen mal en cultivo, pero cuando crecen junto con queratinocitos producen cantidades suficientes para transferirlos a las grandes áreas afectadas por el vitiligo. Por lo tanto, éstos juegan un papel accesorio indispensable en la restauración de la pigmentación (de Luca, 2006).

4.4 SISTEMA NERVIOSO

Se pronostica dos maneras en que se puede utilizar SC para la reparación neural, que son: el trasplante de células derivadas de SC o la estimulación de la neurogénesis a partir de SC endógenas. Estos enfoques son complementarios, aunque conceptualmente diferentes. El desarrollo de estos conocimientos pueden producir sinergias (Frisén, 2006).

Las células madre neurales son células inmaduras que tienen el potencial de generar los principales tipos de células del sistema nervioso central: Neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. Otra característica clave es su capacidad de dividirse para dar lugar a nuevas SC, es decir, capacidad de auto-renovación, permitiendo así la persistencia y la funcionalidad del sistema a lo largo de mucho tiempo. Las SC neurales también dan lugar a una variedad de células no neurales como: células musculares, células de cartílago, células óseas y células de pigmento. Investigaciones de Biología del Desarrollo, en animales, hasta el presente nos han dado un conocimiento sustancial sobre el desarrollo de las SC neurales y de las

señales que controlan la generación de una variedad de diferentes tipos celulares. Algunas de las señales de desarrollo descubiertas se han usado con éxito en ESC en cultivo, para dar lugar a tipos de células deseados que han demostrado ser funcionales después del trasplante en animales modelos (Frisén, 2006).

Sólo en la década de 1990, gracias a la introducción de nuevas técnicas, se logró la demostración inequívoca de que se producen nuevas neuronas en el cerebro adulto, desmontando el dogma de que no existe regeneración neuronal después del nacimiento. Hoy sabemos que nuevas neuronas se generan a lo largo de la vida en regiones discretas del cerebro. En un estudio pionero, en 1998 Eriksson y sus colegas por primera vez demostraron la neurogénesis en el hipocampo humano adulto empleando células marcadas con BrdU, pero el conocimiento sobre la magnitud y el potencial de este proceso en patologías es aún muy limitada en el hombre. Las neuronas generadas en la edad adulta derivan de SC, pero su investigación revierte serias dificultades, ya que se carece de marcadores y técnicas específicas. Diversas investigaciones han generado resultados contradictorios, evidenciando la necesidad de desarrollar nuevas estrategias para visualizar la evolución en un linaje celular *in vivo*. Las SC neuronales trasplantadas pueden producir factores neurotróficos, que pueden apoyar la supervivencia de las neuronas o tener efectos inmunomoduladores. Por otra parte, el trasplante de SC en animales modelos de trastornos metabólicos sugiere que las SC, o su progenie, pueden reducir sustancialmente la acumulación de productos tóxicos (Frisén, 2006).

Una alternativa atractiva para el trasplante de células es inducir a las SC residentes para producir nuevas células. Este enfoque tendría la ventaja de ser potencialmente no invasivo y los pacientes tendrían sus propias células, sin la

necesidad de inmunosupresión. Esto presenta dificultades a superar, incluyendo varias instancias en lo que hay que trabajar como: la proliferación celular, la diferenciación y la migración. Sin embargo, parece que el cerebro adulto puede retener muchas de las señales instructivas necesarias. Además, varios fármacos comúnmente prescritos, en psiquiatría, parecen estimular la neurogénesis, lo que puede explicar, parcialmente, su efecto terapéutico. Una indicación dramática de que este enfoque puede ser beneficioso en tratamientos de patologías neurológicas, fue proporcionada por Nakatomi y colaboradores, quienes sugirieron que el suministro de factor de crecimiento mitógenos epidérmico (EGF) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) promueve la proliferación de SC en el ventrículo lateral, lo que resulta en la sustitución neuronal y la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular. Es importante destacar que la sustitución neuronal parecía incluir regiones donde la neurogénesis no se produce a niveles apreciables en condiciones normales (Frisén, 2006).

Al momento se hacen esfuerzos para poder identificar *in vivo* los movimientos de las células madre neuronales adultas endógenas (aNSC) dentro de áreas lesionadas por medio de estudios de imagen, entre los que incluyen tomografía y espectroscopia de resonancia magnética, así como tomografía de emisión de positrones, técnicas con las que ha sido posible constatar esta actividad (Rueger y Schroeter, 2015). Las aNSC tienen varias ventajas clínicas, tales como la proliferación limitada, potencial de diferenciación en células neuronales innatas funcionales, y ausencia de limitaciones éticas. A pesar de los méritos de aNSC, las dificultades en el aislamiento del cerebro normal, y en la expansión *in vitro*, han bloqueado los estudios preclínicos y clínicos usando aNSC. Sin embargo, varios grupos han desarrollado recientemente nuevas técnicas para aislar y expandir

estas células en cerebros adultos normales, y se han visto aplicaciones exitosas de aNSC en enfermedades neurológicas. Con nuevas tecnologías para las aNSC y sus fortalezas clínicas, los obstáculos en las terapias con ASC para enfermedades neurológicas podrían superarse. Podemos ver un resumen de estos progresos en las Tablas 6 y 7 (Nam *et al.*, 2015).

El proceso de reparación de nervios periféricos luego de lesiones es muy pobre, esto debido a la complejidad de los factores que intervienen en mantener un ambiente adecuado para permitir el crecimiento de los nervios y en especial de los axones. Las células de Schwann tienen un papel fundamental en estos procesos. Las SC tienen el potencial de aumentar estas células y prolongar su habilidad de estimular la regeneración. También tienen la habilidad para evitar la cromatolisis y la apoptosis, aumentando las poblaciones, luego de una axotomía. Pueden, así mismo, preservar los tejidos, como el músculo denervado, hasta una nueva inervación, lo que provee un alto potencial a las terapias con SC en lesiones de nervios periféricos. En la Tabla 8 se puede observar un resumen de los estudios de este tema (Fairbairn *et al.*, 2015). También se han realizado prometedores ensayos para regeneración de nervios periféricos empleando células madres derivadas de adipocitos (ADSCs), en la Tabla 9 se puede ver un resumen de los esfuerzos realizados para este propósito, así como en la Figura 4 se puede observar una interpretación de la posible manera en que se da esta acción. (Zack-Williams *et al.*, 2015).

Adicionalmente, se ha observado una promisorio capacidad de las SC para tratar varias condiciones capaces de producir ceguera, como distrofia de Stargardt, y atrofia geográfica. Actualmente varios ensayos clínicos están en curso con SC para terapias de la retina, con el objetivo de establecer la seguridad y eficacia de

estas terapias. Un resumen de las investigaciones en desarrollo, registradas se puede observar en la Tabla 10 (Garcia *et al.*, 2015).

4.5 SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO

El mantenimiento, la reparación y regeneración de músculo esquelético adulto está mediado por las SC dentro del músculo, además de las células satélite, que es la célula madre arquetípica de músculo. Hay otras SC, como los pericitos, en el músculo esquelético que pueden contribuir a la regeneración muscular en condiciones experimentales. Se necesitan más estudios para determinar las funciones de las diferentes células residentes del músculo esquelético en los procesos de reparación, mantenimiento y regeneración (Meng y Morgan, 2014).

En el músculo esquelético existen muchas SC que pueden contribuir a la regeneración muscular bajo condiciones experimentales, pero, aparte de las células satélite y los pericitos, su contribución, en caso de haberla, para el crecimiento muscular "normal", el mantenimiento y la reparación, nos es desconocida. Se necesitan otros estudios para determinar las funciones de las diferentes células residentes del músculo esquelético, tanto en músculos normales como distróficos, así como aumentar su función para prevenir o retrasar la pérdida de fibras musculares esqueléticas que se produce como consecuencia de la edad y las distrofias musculares. En la Tabla 11 se presenta un resumen de los estudios sobre estas células (Meng y Morgan, 2014).

En 1961, se identificaron células ubicadas entre la membrana muscular y la lámina basal que rodea cada fibra muscular, a las que se denominan células "satélite". En el músculo adulto sano, estas células están en fase de reposo, son muy pequeñas y con un núcleo condensado. Si el músculo se lesiona, se activan

rápidamente y comienzan a dividirse para generar una progenie que reparan las fibras dañadas y/o generan nuevas fibras para reemplazar las que se han degenerado. Sin embargo, parte de la progenie, no se diferencia y continúa como células satélite, asegurando así la posibilidad de una regeneración futura. Esta posibilidad, durante el curso de las distrofias musculares, se agota (Cossu, 2006).

Se han reportado varias técnicas novedosas empleando marcadores que permiten rastrear a las SC incorporándose a los discos intervertebrales, por medio de resonancia magnética, en la Tabla 12 se puede ver una revisión de lo indicado (Handley *et al.*, 2015). Asimismo, se llevan a cabo pruebas clínicas en tratamientos para dolor musculoesquelético, puesto que SC genéticamente modificadas y células madre pluripotentes inducidas, ofrecen nuevas perspectivas prometedoras para el tratamiento del dolor (Labusca *et al.*, 2015).

Las distrofias musculares se asocian con la destrucción progresiva de las fibras musculares, que en los casos más graves, produce la sustitución progresiva del tejido muscular con tejido cicatricial y grasa. Esto conduce a la parálisis progresiva e irreversible y finalmente la muerte del paciente, como es el caso de la distrofia muscular de Duchenne (DMD), para la que no existe una terapia eficaz. Es causada por mutaciones en los genes que codifican proteínas que unen el citoesqueleto de la célula muscular a las estructuras de apoyo fuera de la célula. Estas proteínas forman una unidad compuesta con otras proteínas, y la falta de un solo componente conduce a la destrucción de la unidad funcional y con ello se produce fragilidad de la membrana muscular. Con la contracción, los defectos de la membrana causan que las fibras musculares se dañen o mueran. Estas fibras serán inicialmente reparadas o reemplazadas por células satélites, pero estas células tienen el mismo defecto genético y así producen nuevas fibras que también

degeneran. Con el tiempo se agota la población de células satélite, y el tejido se sustituye progresivamente por cicatrices y grasa. Ensayos con SC en los que se repare el gen defectuoso, antes de su re-introducción en el paciente, podría proporcionar una esperanza para las generaciones futuras de los enfermos de DMD (Cossu, 2006).

En 1998 se informó que BMSC, pueden participar en la regeneración y reparación del músculo, aunque en baja frecuencia. Este fenómeno, plasticidad, es un fenómeno raro y en ocasiones se produce por fusión celular. Hasta que los mecanismos moleculares se aclaren y la biología de estas células se entienda, la plasticidad no será de ayuda desde el punto de vista terapéutico. Durante los últimos años se han acumulado pruebas de que diferentes SC, aisladas de tejidos no relacionadas con el músculo, tales como los vasos sanguíneos, tejido adiposo, sinovium y tejido nervioso, son capaces de diferenciarse en células del músculo esquelético. Esta diferenciación se produce a baja frecuencia, por lo general menos de 10 por ciento de la población celular total, y necesita ser inducida por señales liberadas por el tejido, o por fármacos que modifiquen las instrucciones genéticas (Cossu, 2006).

En estrategias terapéuticas se podrían emplear células derivadas de un mismo paciente, autólogo, o de un donante sano, heterólogo: en el primer caso el gen defectuoso debe ser corregido o reemplazado para hacer el trasplante eficaz; en el segundo caso, se requeriría una buena compatibilidad o la modulación inmune para prevenir el rechazo de las células extrañas. En ambos casos, para optimizar las posibilidades de éxito de SC para la terapia de distrofia muscular sería necesario: a) aislar células de un sitio anatómico de fácil acceso; b) cultivarlas en el laboratorio sin pérdida de la capacidad de autorrenovación y diferenciación

muscular; c) reparar eficientemente los genes defectuosos, al usar células autólogas; d) lograr una eficiente manera de llegar al músculo enfermo, preferentemente, a través de la circulación sanguínea. Las células pueden ser aisladas a partir de biopsias de músculo esquelético, células satélite, también de vasos, grasa, médula ósea, sinovium y la dermis. En el caso de células diferentes a las satélites de músculo es necesario valorar el potencial de diferenciación en células musculares (Cossu, 2006).

Un ensayo utilizando injerto de BMSC marcadas con proteína verde fluorescente, luego de ser irradiados para destruir su médula ósea, produjo una significativa incorporación de estas células en el músculo tibial anterior que había sido dañado con una toxina. Esta incorporación se vio incrementada al suministrar un extracto de *Aphanizomenon flos-aquae* (Drapeau *et al.*, 2010)

Hoy se les da el nombre de células madre mesenquimales (MSC) a aquellas que pueden formar esqueleto. Están contenidas en la fracción de la médula ósea que no da lugar a las células sanguíneas, llamado el tejido estromal, las células madre esqueléticas (SSC) pueden ser aislados en cultivo a partir de pequeñas muestras de médula ósea de adultos, obtenidos a través de procedimientos de extracción simples. Las SSCs puede ser expandidas en cultivo e inducidas a generar: tejido óseo, el principal constituyente de los huesos individuales, cartílago, el principal constituyente de las superficies articulares de los huesos, tejido adiposo, que llena las cavidades óseas de la médula y tejido blando alrededor de los huesos, el tejido fibroso, el constituyente principal de los tendones y ligamentos, y el tejido necesario para soportar la hematopoyesis, estroma hematopoyético, que crea el ambiente para formar células de la sangre dentro de las cavidades de la médula. Así, todos los tejidos que conforman el esqueleto pueden ser generados a partir

una sola célula madre esquelética. Esto ha sido demostrado en animales modelos (Bianco, 2006).

Actualmente, el método más usado en ingeniería de tejido óseo se basa en la construcción de un andamio típicamente con una fase mineral, hidroxiapatita, fosfato tricálcico, carbonato de calcio, o combinaciones de los mismos. El componente celular se obtiene mediante el cultivo *in vitro* de las SSC aisladas de la propia médula ósea del paciente. Las células obtenidas de esta manera se combinan con el andamio, al que se adhieren; lo que facilita la deposición de hueso nuevo. Idealmente, el andamio debe ser susceptible de reabsorción por el anfitrión, para dejar sólo el hueso recién formado (Bianco, 2006).

Así, como la investigación de SC en la hematopoyesis permitió una cura para las enfermedades que parecían ser incurables, como la leucemia, el mayor atractivo y el desafío de los ensayos con SSC radican en la posibilidad de curar enfermedades paralizantes y a veces letales del esqueleto. Enfoques terapéuticos actuales para enfermedades como la osteogénesis imperfecta y la displasia fibrosa no proporcionan una cura, sin embargo, la terapia basada en SC ofrece buenas perspectivas por lo que estas investigaciones son más una necesidad médica que una opción. Es importante considerar, también, algunas propiedades menos aparentes de SSC al colaborar en las enfermedades hematológicas, junto con las HSC para generar el marco del estroma para la hematopoyesis. Se están realizando estudios para diseñar y probar nuevos materiales, incluidos los diseñados para liberar factores bioactivos de forma controlada. Es importante adaptar las técnicas para mantener las propiedades características de las SC en el largo plazo después de un trasplante (Bianco, 2006).

Investigaciones con SC en el campo de las enfermedades esqueléticas abren nuevas e importantes perspectivas en múltiples áreas de la medicina y cirugía ortopédica. En cirugía ortopédica, se ofrece la opción de utilizar SC para generar los tejidos necesarios para reparar defectos óseos, por ejemplo, para reemplazar segmentos extirpados de un hueso; para aumentar la masa ósea en un sitio específico, o para cubrir defectos resultantes de una fractura de no unión (fracture non-union), etc. Más allá de los límites de la cirugía ortopédica, la noción de que los tejidos óseos se originan a partir de SC abre la perspectiva de la utilización de SC para la cura de las enfermedades no tratables, como las enfermedades genéticas paralizantes del esqueleto. En tales casos, la terapia con SC se puede combinar con la corrección genética. Por otra parte, la noción de que el crecimiento y la rotación del esqueleto, en toda la vida, depende fundamentalmente de la biología de SSC, ofrece una perspectiva sobre enfermedades del esqueleto en general. Esto influye en el desarrollo de nuevos medicamentos, y sobre el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad. Esto hace que las SSC sean un objetivo para la intervención farmacológica en una amplia gama de problemas óseos, incluyendo enfermedades de muy alta prevalencia y de alto impacto social y económico (Bianco, 2006).

Otro tipo de SC que despierta un gran interés por su asequibilidad son las que residen en los dientes. Se pueden obtener a través de procedimientos dentales de rutina mínimamente invasivos, de los dientes primarios en su exfoliación natural o de los terceros molares los que habitualmente son extraídos de manera profiláctica. Un importante objetivo es la formación de un nuevo diente enteramente funcional, en los últimos años, se han logrado avances en pos de este objetivo, como combinación de células madre de la papila apical y del ligamento periodontal

(PDLSC) para construir una raíz funcional y ligamento periodontal *in vivo*. También se ha utilizado con éxito en defectos óseos alveolares la PDLSC combinadas con andamios minerales. El potencial de transdiferenciación de las células madre dentales en otros tejidos adultos sugiere que un día estas células podrían ser modificados para alcanzar el mismo nivel de potencial de diferenciación como ESC. Ver Figuras 5 y 6 (Mushegyan *et al.*, 2014).

4.6 SISTEMA ENDÓCRINO

Las enfermedades que afectan a las glándulas de secreción interna provocan complicaciones de salud graves y habitualmente deben recibir tratamientos de por vida. Por todo esto, revierte un gran interés el poder regenerar las glándulas para que puedan reestablecer una adecuada homeostasis. Una de las principales enfermedades que afectan a estos órganos es la Diabetes, la cual cada día afecta a mayor número de personas. Entre las complicaciones asociadas a ella están la enfermedad cardiovascular, accidente cerebrovascular, insuficiencia renal, ceguera y amputación. Por todo esto, pacientes con formas graves de diabetes pueden beneficiarse significativamente de la terapia de reemplazo celular a través de un trasplante de células productoras de insulina funcionales normales. Las células- β integran clústeres, denominados islotes de Langerhans (o "islotes" para abreviar). Las células- β producen la insulina que controla la concentración de glucosa en la sangre mediante la secreción de insulina en respuesta al aumento de los niveles de azúcar en la sangre. Sin embargo, las diferentes células productoras de hormona del páncreas forman una entidad integrada, o "miniórgano", que en última instancia asegura una regulación de afinado de los niveles de glucosa en sangre en respuesta a los cambios fisiológicos (Edlund, 2006).

La terapia de reemplazo celular es un enfoque atractivo para el tratamiento y la cura de diabetes. El uso de SC para la generación de células- β productoras de insulina es de gran interés, pero seguirá siendo solo una posibilidad hasta que podamos asegurar que las células puedan ser producidas de manera eficiente y reproducible, *in vitro* o *in vivo*, y permanezcan estables y totalmente funcionales. La investigación en curso con SC, y en particular relacionado con la diferenciación *in vitro* de ESC, es alentadora, aunque aún distante. Tomando en cuenta las interacciones de las diferentes células endocrinas del páncreas y la regulación muy fina de la secreción hormonal en respuesta a las variaciones en los niveles de azúcar en la sangre, una pregunta importante es si la generación de células- β que producen insulina es suficiente para garantizar la homeostasis de la glucosa, o si se deberá crear islotes completamente integrados que contengan todas las células endocrinas pancreáticas. Una cuestión igualmente importante para curar la diabetes es el rechazo inmunológico. Hay que considerar que la causa primaria de la diabetes tipo 1 es la reacción autoinmune. Por lo tanto, el éxito futuro de las terapias basadas en células no debe olvidar el problema de cómo proteger las nuevas células- β de la destrucción inmunológica, sea autoinmune o alloinmune (Edlund, 2006).

Asimismo, se ha logrado recientemente la generación de ESC específicas a partir de células somáticas de pacientes diabéticos, es decir, células pluripotentes inducidas (iPC). Por lo tanto, la generación de las células- β funcionales de ESC humanas representa un enfoque muy prometedor para tratar la diabetes. Varios estudios informaron la generación de células- β del páncreas de las ESC e iPSC. Sin embargo, una serie de obstáculos se presentan para la generación de las células- β del páncreas totalmente funcionales (Abdelalim, 2015).

Hoy se considera que las regulaciones epigenéticas, con metilación de las histonas y del DNA, son eventos moleculares que conducen a la generación de una estructura física/espacial específica del ADN que se hereda a través de divisiones celulares/proliferación y persiste en generaciones sucesivas de las células. Estos cambios son fundamentales para el compromiso de linaje celular durante el desarrollo del fenotipo. Las conformaciones abiertas o compactas de la cromatina son reguladas durante el desarrollo embrionario, cuando las células se comprometen a linajes específicos. El reclutamiento de enzimas particulares que produzcan heterocromatización son algunos de los eventos de regulación que deciden la accesibilidad de los promotores de genes y, por tanto, la eficiencia de la expresión génica. Durante la última década, se ha propuesto que MSC derivadas del epitelio de los islotes pancreáticos humanos son las SC más eficientes para la diferenciación hacia linaje endocrino de páncreas, ya que retienen la memoria epigenética activa en la región promotora de insulina (Wong *et al.*, 2014).

No solamente se ha logrado avances en el conocimiento de las SC del páncreas, también se están llevando a cabo logros en otras glándulas endocrinas, un ejemplo de eso es lo reportado por Florio, que indica lo siguiente: Los mecanismos subyacentes de la plasticidad pituitaria que permiten a la glándula adaptar el número de células productoras de hormonas a las necesidades fisiológicas, las que cambian continuamente, son aún poco conocidos. Las ASC mantienen la homeostasis celular, la regeneración y plasticidad funcional en varios órganos y tejidos. Sólo recientemente se identificaron células madre potenciales y fenotípicamente características en la hipófisis adulta, y ya se conocen algunos de los procesos de regulación genética de estas células. En la Tabla 13 se resumen

algunos de estos procesos, los que podrían tener un papel importante en la tumorigénesis de la pituitaria (Florio, 2014).

4.7 CÁNCER

Un punto de mucho interés es el papel de las células madre de cáncer (CSC) en el proceso de desarrollo de la oncogénesis. Existe una compleja heterogeneidad intratumoral sin que se entienda completamente la diversidad dentro de un tumor. La evolución clonal de las CSC, se han propuesto como origen de esta heterogeneidad. La plasticidad de las CSC y la conversión bidireccional entre las células madre y no madre ha añadido complejidad adicional a estos paradigmas. Esto puede ayudar a explicar la diversidad observada en los tumores sólidos. El proceso de plasticidad de las CSC puede ser modulada por señales microambientales específicas e interacciones celulares que surgen en el lugar del tumor. Además de promover la plasticidad de las CSC, estas interacciones pueden contribuir a la transformación celular de las células tumorales y afectar a la respuesta a los tratamientos quimioterapéuticos y de radiación, por la protección proporcionada por las CSC de estos agentes (Cabrera *et al.*, 2015).

Los avances recientes en la biología de células madre han arrojado luz sobre cómo las SC normales pueden adquirir características malignas durante la tumorigénesis. Los homólogos de las CSC podrían ocurrir a través de alteraciones del destino de las SC, incluyendo un aumento en la capacidad de auto-renovación y una disminución en la diferenciación y/o apoptosis. Esta evolución oncogénica de las CSC, que a menudo se asocia con fenotipos agresivos de las células oncogénicas, es controlada, en parte, por mecanismos epigenéticos y desregulación, incluyendo metilación aberrante del ADN que lleva a la memoria epigenética anormal. Terapia epigenética con metiltransferasas de ADN (DNMT) 1, DNMT3A y DNMT3B vía 5-azacitidina (Aza) y deoxicitidina 5-Aza-2'(Aza-DC) han demostrado ser exitosas en el tratamiento de las neoplasias hematológicas

especialmente para los pacientes con síndrome mielodisplásicos (Wongtrakooogate, 2015).

4.8 TEORÍA DE REGENERACIÓN Y RENOVACIÓN CURATIVA

Muchos estudios recientes sugieren, al verlos en conjunto, que la salud obedece a un equilibrio entre la pérdida celular, que es parte del proceso de desgaste normal o del envejecimiento, y la regeneración de tejidos a base de células madre de medula ósea (BMSC). Las enfermedades se formarían a partir de un desequilibrio entre el volumen del deterioro de los tejidos y la reparación o renovación de los tejidos. En consecuencia, si las BMSC migran normalmente en los tejidos y llevan a cabo la renovación y reparación diariamente, el daño de los órganos no se produciría. Por otro lado, si las SC no pueden cumplir eficazmente su función de renovación y reparación de tejidos, la continua pérdida celular puede conducir, con el tiempo, a la pérdida de la función del tejido y la consecuente formación de una enfermedad. En concreto, las SC endógenas constituyen el sistema natural de reparación del cuerpo (Drapeau, 2013b). Dos aspectos a ser considerados en el mantenimiento de la salud y prevención de enfermedades son: 1) mejorar la reparación y renovación de tejidos mediante el apoyo al funcionamiento adecuado de las SC, disminuyendo cualquier condición que pueda reducir la capacidad de las SC para hacer su trabajo, y 2) disminuir toda condición que pueda acelerar pérdida celular y adoptar las estrategias que apoyen la salud de las células, como adecuados suplementos nutricionales, antioxidantes y correcto estilo de vida, (Drapeau, 2013a).

Pruebas realizadas en individuos que recibieron trasplantes de órganos de personas de otro sexo (Sex-mismatched) han permitido ver cómo trabajan las SC

en personas vivas. El seguimiento de la presencia o no del corpúsculo de Barr nos permite saber si las células se derivan del órgano o del hospedero. En hombres que recibieron trasplante de hígado de mujeres se pudo constatar de un 16% al 40% de células con cromosoma Y en plazos entre 4 y 13 meses. El contenido mayor de células originadas en el hospedero se observaron en un hombre que murió por complicaciones de una cirrosis, lo que indica que este proceso se da de manera preferente en los tejidos lesionados. Observaciones similares se han efectuado en personas que han recibido trasplantes de médula ósea de otro sexo, lo que hace pensar que las BMSC tienen un papel preponderante en los procesos regenerativos (Drapeau, 2013a).

Werner y colaboradores, 2005, en base al seguimiento de 519 pacientes con enfermedad arterial coronaria confirmada, sugieren que las células progenitoras endoteliales circulantes se pueden utilizar para identificar a los pacientes con alto riesgo de eventos cardíacos mayores. Este hallazgo apoya la noción de que las células inmaduras juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedad aterosclerótica y que la medición de las células progenitoras endoteliales puede mejorar la estratificación del riesgo. Otros estudios prueban las posibilidades terapéuticas de las células madre endoteliales circulantes (PBSC) y sugieren que son necesarias para la adecuada cicatrización vascular. De ello llegan a establecer que: Células progenitoras endoteliales, derivadas de médula ósea, son el soporte de la integridad del endotelio vascular. El número y la función de las células progenitoras endoteliales se correlacionan inversamente con factores de riesgo cardiovascular, pero el valor pronóstico asociado con células progenitoras endoteliales circulantes no ha sido definido (Werner *et al.*, 2005). Si bien muchas de las investigaciones de la curación, la regeneración y la reparación de tejidos se

han efectuado en con el sistema cardiovascular, esto no se limita a esta parte del cuerpo. Se puede considerar que un mayor número de PBSC significa que más SC están disponibles para migrar a cualquier tejido que necesite reparación. De hecho, el apoyo a la liberación natural de BMSC podría muy bien llegar a ser la forma más fácil, más segura y más eficaz de aprovechar el potencial curativo de las SC (Drapeau, 2013a).

Haciendo un esquema: 1) Existen mecanismos en el organismo mediante los cuales, compuestos específicos son liberados después de una lesión, los que desencadenan la liberación de BMSC. También existen otros compuestos naturales que apoyan este proceso. 2) Poco después de una lesión, o en el curso de una degeneración tisular crónica que genera un daño de manera más lenta, los tejidos afectados liberan compuestos para atraer SC hacia el tejido afectado, específicamente SDF-1. 3) Cuando las SC ubican el tejido lesionado, migran a través de la pared capilar hacia el tejido, en un proceso llamado extravasación. 4) Una vez en el tejido, las SC siguen el gradiente de SDF-1 liberado por los focos de lesiones o daños, y, literalmente, se arrastran hacia el sitio del daño. 5) Al llegar al sitio de la lesión, las SC proliferan bajo la influencia de una serie de factores de crecimiento, y luego se diferencian en células de ese tejido al entrar en contacto con las células o las señales de la matriz extracelular del tejido (Drapeau, 2013a).

Aunque la mayoría de tejidos albergan sus propias SC, se ha demostrado que las BMSC contribuyen de manera significativa a la reparación de muchos tejidos como: muscular, corazón, hígado, cerebro, retina, pulmón, intestino, riñón, bazo, hueso, piel, entre otros, prácticamente todos tejido del cuerpo. Aunque las SC locales de los tejidos son capaces de alguna curación y reparación, su cantidad o capacidades no son suficientes y SC circulante debe migrar al tejido dañado para

asegurar la reparación completa. Pese al poco trabajo realizado en esta área, la opinión generalmente aceptada, es que las SC propias de los tejidos y las PBSC constituyen dos fuentes diferentes de SC. En otras palabras, a medida que participan en el proceso de reparación, las SC de tejido y PBSC actuarían de forma independiente. Mientras que las SC de tejido completarían su diferenciación y se convierten en células de los tejidos, las PBSC emigrarían al tejido dañado para convertirse directamente en células diferenciadas. Sin embargo, hay otro punto de vista que sugiere que PBSC pueden, simplemente, reponer las SC locales. Las PBSC al migrar a un tejido, primero se convertirían en SC de tejido antes de diferenciarse en células del tejido completamente funcionales (Drapeau, 2013a).

Cuando un tejido se lesiona, muy pronto, libera un compuesto específico llamado G-CSF, que es bien conocido por su capacidad para desencadenar la liberación de BMSC. Luego de un día, el número de PBSC aumenta en la sangre. Simultáneamente, el tejido lesionado segrega SDF-1, que se une específicamente a un receptor (CXCR4) en la superficie de las SC, estas moléculas de adhesión permiten que las SC se unan a la pared del capilar y luego migren a través de la circulación hacia el tejido; una vez ahí, las SC, literalmente, se arrastran hacia el sitio de la lesión, donde comienzan el proceso de proliferación y diferenciación hacia células de ese tejido. En este proceso, el número de SC en circulación es un parámetro clave; mayor número de PBSC en el torrente sanguíneo significa, más SC disponibles para migrar al tejido y reparar las lesiones. Tomando en conjunto los datos disponibles, parece que en última instancia, existe una célula madre primordial que reside en la médula ósea, la que puede liberarse y migrar hacia los tejidos, donde se convierte en SC transitoria específicas de ese tejido. Las SC de tejidos específicos, contribuirán a pequeñas reparaciones y se reponen

rutinariamente a partir de las BMSC que migran a los tejidos. En los casos de lesiones o daños importantes, BMSC migrarán en gran cantidad contribuyendo directamente a la reparación de tejidos (Drapeau, 2013a).

A veces, las SC específicas, pueden transdiferenciarse y convertirse en células de otros tejidos o pueden ser liberadas y regresar a la médula ósea, dando lugar a una amplia variedad de SC específicas de médula ósea. Esto es señal que en los seres humanos las BMSC juegan un papel importante en los procesos de reparación y regeneración de tejidos, así como en su eventual curación (Drapeau, 2013a).

Unas pocas horas después de un infarto agudo de miocardio (AMI), el tejido cardíaco libera G-CSF, sustancia que es bien conocida por desencadenar la liberación de BMSC. Al aumentar su concentración, aumenta el número de PBSC, mucha evidencia científica indica que este aspecto es, probablemente, la parte más importante del proceso de reparación tisular; al aumentar el número de PBSC, más SC están disponibles para migrar a los tejidos dañados (Drapeau, 2013a).

La opinión generalmente aceptada es que una vez que una SC se ha comprometido con un determinado linaje, conocida como célula madre comprometida con un tejido; (TCSC), está destinada a convertirse en una célula de ese tejido. En otras palabras, si una célula madre ha migrado en el hígado y se convierte en una célula oval del hígado, no puede invertir su diferenciación y convertirse en otro tipo de célula. Sin embargo, existe una creciente evidencia de que las TCSC tienen la capacidad de revertir su curso y convertirse en células de otro tejido, incluso readquirir pluripotencia. Esto significa que su compromiso puede ser reversible, permitiendo cruzar las barreras de linaje y reprogramarse; adoptando

características funcionales de las células de otros tejidos. Por ejemplo, cuando se cultivan SC del hígado, conocidas como células ovals, altamente purificadas, en un ambiente de alta glucosa, pueden diferenciarse en células productoras de hormona pancreática, y durante esta transformación pierden todas las características de células hepáticas. Estas células "trans-diferenciadas" pueden auto-ensamblarse en clusters que expresan marcadores de células de los islotes pancreáticos y también producir hormonas endocrinas pancreáticas como la insulina y el glucagón. Cuando se estimula con la glucosa, estas células sintetizan y secretan insulina. Cuando se inyectan en ratones, estos "clusters derivados de células ovals" muestran la capacidad de revertir la hiperglucemia en ratones diabéticos. Por lo tanto, las células madre hepáticas adultas pueden revertir su compromiso y trans-diferenciarse en células pancreáticas funcionales productoras de hormonas (Drapeau, 2013a).

Cuando se entiende que las BMSC constituyen el sistema de curación natural del cuerpo, es imperativo entender lo que podemos hacer para apoyar la función de las SC, y evitar cualquier factor que reduzca su capacidad, dentro de nuestro día a día. Por ejemplo, se ha visto que el hábito de fumar reduce la capacidad de las SC para migrar al pulmón, proliferar y diferenciarse. El fumar también afecta a la formación de hueso y la reparación de los tejidos en general. Así mismo, se ha visto que el estrés suprime la capacidad de las SC para reparar y curar. Por otro lado, el sueño profundo puede apoyar la proliferación de BMSC, a través de la producción de melatonina (Drapeau, 2013b). El ejercicio también ha demostrado que apoya la liberación de BMSC, aunque este efecto sólo ha sido demostrado luego de ejercicio extenuante (da Silva, 2012). Una buena dieta y la nutrición con antioxidantes también apoyan la función de SC.

Ya se ha demostrado que el número de PBSC dentro de la sangre es uno de los mejores marcadores de la salud cardiovascular. Una reducción en el número de PBSC aumenta el riesgo de un evento cardiovascular; similares observaciones se han realizado con la distrofia muscular, donde el número de PBSC se ha relacionado con la magnitud y el progreso de la enfermedad, e incluso es uno de los predictores más importantes del avance de la enfermedad. Así mismo, la reducción del número de PBSC se ha correlacionado con el desarrollo de la hipertensión arterial pulmonar, artritis, aterosclerosis, lupus eritematoso, la insuficiencia renal e incluso migrañas. Es muy probable que muchas enfermedades degenerativas como Parkinson, Alzheimer, diabetes, y enfisema sean en realidad enfermedades de las SC. El problema no se originaría en la degeneración del cerebro, páncreas o del tejido pulmonar, que son procesos naturales, sino más bien, en una disminución de la capacidad de regeneración de los tejidos (Drapeau, 2013a).

Esto no invalida lo que ya sabemos sobre la salud y el bienestar, ya que los beneficios de una dieta completa y balanceada, ejercicio, control del estrés y el adecuado descanso, podrían apoyar el correcto funcionamiento de SC y con ellas el sistema natural de curación y renovación, responsable del mantenimiento de la salud, desde el día en que nacemos. El número de células madre en circulación sería, entonces, un marcador ideal para establecer el riesgo general de la salud. Mientras más SC en el torrente sanguíneo, menor el riesgo de desarrollar enfermedades degenerativas. Más importante aún, cualquier acción que pueda aumentar el número de SC en circulación promovería una salud óptima (Drapeau, 2013a).

4.9 SUPLEMENTOS NUTRICIONALES QUE PUEDEN POTENCIAR LA ACCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE ADULTAS

Probablemente el descubrimiento más interesante en el campo de la nutrición de SC, y que ha dado lugar al concepto de potenciadores de estas células, se refiere al efecto de un alga llamada *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) en la movilización de SC, AFA es una cyanophyta, alga verde-azules, también referida como cianobacteria, que ha mostrado en estudios recientes tener un ligando de la L-selectina, que actúa como movilizador leve de las BMSC. El consumo de 1 gramo de un extracto patentado AFA ha demostrado aumentar el número de SC. Dada la importancia que tiene el poder aumentar el número de PBSC para la salud general, como se ha analizado, el descubrimiento de esta alga poco conocida y su efecto sobre las SC constituye un avance significativo en la salud y el bienestar (Drapeau, 2013a). Dicho extracto se comercializa con el nombre de StemEnhance® (Stemtech, 2014b) (ver Anexo1).

El estudio realizado por Jensen y colaboradores, pone de manifiesto que el AFA contiene un compuesto que se une específicamente a la L-selectina humana, interfiriendo en el eje CXCR4/SDF-1 y de esta manera en la adhesión de las SC al lecho en la médula ósea, facilitando su liberación. Este compuesto consta de dos subunidades con un peso molecular aparente de alrededor de 54-57 kDa. Este ligando de L-selectina humana, obtenida a partir de extracto acuoso de AFA, fue capaz de modular la respuesta funcional en linfocitos humanos *in vitro*; así mismo, se probó una regulación de la expresión del receptor de quimioquinas CXCR4, con lo que se comprobó la unión a L-selectina. En la misma publicación se reporta el resultado de un estudio doble ciego controlado con placebo, que demuestra que el consumo de StemEnhance® resulta en un aumento pequeño pero significativo en

el número de SC CD34⁺CD133⁺ y CD34⁺CD133 en circulación, alcanzando el máximo 1 hora después del consumo de StemEnhance®, un extracto de AFA enriquecido con el ligando de L-selectina recién descubierto (Jensen *et al.*, 2007).

La posibilidad de incrementar el número de PBSC empleando complementos nutricionales se ha reportado también con el empleo de Stem-Kine (Aidan productos, Chandler AZ), es producido por la fermentación de una combinación de té verde, astrágalo, extractos de baya de goji, con un derivado alimenticio de *Lactobacillus fermentum* junto con ácido elágico, beta 1,3 glucano y vitamina D3 (Mikirova *et al.*, 2010).

Los beneficios de estimular la movilización endógena de BMSC en diversas condiciones degenerativas se ha documentado en varios animales modelos y en seres humanos. En algunos casos las BMSC migran a los tejidos y contribuyen directamente a la formación de nuevas células somáticas funcionales del tejido receptor. En otros casos, especialmente enfermedades que afectan al corazón y al sistema nervioso central, un mecanismo primario de acción parece ser la secreción de sustancias paracrinas que estimulan la proliferación y diferenciación de SC propias del tejido. Queda mucho trabajo por hacer para dilucidar claramente los mecanismos de acción detrás de los beneficios de BMSC en diferentes circunstancias, sin embargo desde un punto de vista clínico, independientemente del mecanismo de acción, las BMSC puede ser de gran valor para aumentar la calidad de vida de los pacientes afectados por diversas enfermedades degenerativas. Varios movilizadores de SC se han documentado en la literatura científica y muchos de ellos se han asociado con efectos secundarios que impiden la aplicación en seres humanos entre los que se incluyen al factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), Factor de Células Madre, la interleucina-8 y

plerixafor. Estas sustancias se han asociado con efectos secundarios que van desde diarrea, náuseas, dolor, entumecimiento, pericarditis y trombosis. A pesar de los beneficios potenciales, tales efectos secundarios han impedido el uso de tales compuestos para BMSC en los seres humanos, la falta de movilizadores seguros de SC explica el interés limitado en este enfoque terapéutico. Por consiguiente, el principal reto en la investigación, aún más, el potencial terapéutico de BMSC sigue siendo el desarrollo de movilizadores seguros de SC. En tanto, la aplicación clínica podría dar valiosa información de los beneficios clínicos de BMSC (Drapeau *et al.*, 2012).

Dado el interés despertado por el consumo del AFA, también se han realizado otras investigaciones como las técnicas para cosecha y controles de calidad para evitar posibles contaminantes y la presencia de toxinas como la microcistina (Carmichael *et al.*, 2000). También se llevó a cabo un ensayo para descartar el estímulo al crecimiento de tumores cancerosos, reportándose un menor crecimiento tumoral en el animal modelo empleado (Drapeau *et al.*, 2009).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Podemos resaltar las conclusiones y recomendaciones que se detallan en la publicación de la European Molecular Biology Organization (EMBO), Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites del 2006. Ahí se indica que por la poca evidencia de persistencia de células pluripotentes en los tejidos adultos, un objetivo importante de la investigación con SC es encontrar formas de "reprogramar" células adultas a un estado pluripotente. La transferencia nuclear de células somáticas (SCNT) es una manera de lograrlo. Esta técnica puede ser usada para crear ESC a partir de un paciente y poder investigar una enfermedad particular, por ejemplo, la esclerosis lateral amiotrófica, que afecta motoneuronas, así como otras enfermedades degenerativas hereditarias graves. De esta manera se podría comprender enfermedades hereditarias a nivel celular e identificar los genes involucrados en modelos experimentales *in vitro*. La investigación en SCNT también podría conducir a una comprensión del mecanismo de la reprogramación celular y acelerar el desarrollo de métodos que no requieran la transferencia nuclear a óvulos enucleados.

La investigación sobre células madre necesita establecer protocolos de identificación y aislamiento de las escasas SC del interior de los tejidos adultos, de medios de cultivo y proliferación *in vitro*. Así como establecer sus mecanismos de diferenciación, especificidad y estabilización como células diferenciadas funcionales, que mantengan sus características luego de la implantación en los lugares adecuados. Las SC varían mucho en su capacidad de derivación, proliferativa y en la diversidad de tipos de células adultas a las que pueden dar lugar.

Es prudente desarrollar experimentos sobre los tratamientos adecuados; sea el suministro de una infusión de células por vía circulatoria o su introducción directa en el órgano afectado, sean solas, en mezclas o acompañadas de sustancias que faciliten su implantación y desarrollo. Es necesario desarrollar técnicas, equipos y procedimientos específicos para cada práctica clínica, las que podrían incluir biomateriales adecuados que actúen como estructuras en procesos de reconstrucción, como puede ser el caso de andamios para reconstrucción de hueso y cartílago. Valorándose en el camino tanto la eficacia de los tratamientos con SC como su seguridad y estableciéndose adecuados parámetros de control de calidad. En este camino no podrá dejarse de lado los aspectos económicos, relacionados con los costos de desarrollo e implementación de estas nuevas tecnologías y sus posibles beneficios, que podrían estar influidos por los procesos de registro y patente. Asimismo, las consideraciones éticas y las regulaciones legales podrían tener una marcada influencia, que no pueden ser dejadas de lado.

La biomedicina moderna experimentará cambios revolucionarios, a consecuencia de las investigaciones con SC, los cuales solo son posibles gracias a todos los descubrimientos previos que se han realizado en biología y sus aplicaciones de hecho, son muy diferentes de todo lo que se haya hecho antes. Pese a su naturaleza tan original el uso de SC con fines terapéuticos tiene mucho en común con el trasplante de órganos, con la diferencia que se emplean sólo ciertas células y no un órgano completo, pudiendo incluso, si las células son del propio individuo, evitar los problemas de rechazo inmunológico. La tecnología de SC abre la posibilidad de tratar muchas enfermedades, desde las comunes a las raras y en todos los grupos de edad.

Para que una terapia de SC pueda utilizarse en clínica, se deben cubrir muchos desafíos. Resolver el modo de entrega de las células. El método, vía y lugar de introducción en un paciente, probablemente sea específicos para el tipo de célula madre en particular y su propósito. La administración local, para el tejido de interés, ha sido notablemente mejorada con los desarrollos en la tecnología de catéter, aumentando aún más la seguridad. El concepto de infusión de las células en la sangre, probablemente sólo sea utilizable en una pequeña parte de casos, por ejemplo, daños en el revestimiento de los vasos sanguíneos u otras partes directamente accesibles desde el sistema vascular. Probablemente, en la aplicación clínica se recurra a SC, al menos, parcialmente diferenciadas, antes de su introducción en el paciente. La introducción de las SC indiferenciadas sería a lo sumo, una rara excepción. Células Pre-diferenciadas serían más controlables, ya que se encuentran en vías de convertirse en el tejido deseado. Sin embargo, para la reparación de defectos de la piel externa, actualmente se utiliza con éxito epidermis generada *in vitro* que contiene SC indiferenciadas adultas. Aunque se piensa en las SC como un material para ser administrado a manera de un agente terapéutico, es importante no olvidar, que también permiten comprender la forma en que las SC residentes pueden movilizarse para reparar los daños "desde dentro". El trabajo actual en el campo de la distrofia muscular y la atrofia muscular es un ejemplo.

Si a lo descubierto del *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet & Flahault le sumamos lo reportado por Stemtech, respecto a su producto SE2®, el mismo que contiene, adicional al AFA, un alga y una planta, *Undaria pinnatifida*, (Harvey) Suringar y *Polygonum multiflorum* Thunb., la empresa asegura que este producto produce un efecto incrementado de liberación de BMSC (ver Anexo 2) con

lo cual reportan una recuperación de la salud mayor que la indicada para su otro producto, StemEnhance® (Stemtech, 2014a). Estos resultados son muy sugestivos, nos indican que la mejora de la salud que poseen algunos medicamentos naturales puede deberse a una acción positiva sobre el sistema natural de renovación del cuerpo. Adicional a esto, los efectos de diferentes medicamentos naturales pueden tener efectos complementarios y sinérgicos. Es una línea de investigación que debería ser abordada para los productos originarios o producidos en nuestros países; dentro de ésto podríamos pensar en explorar productos como Solanum dulcamara L. (BIRM®) o Lachemilla orbiculata (Ruiz & Pavón) (González, 2011) que son plantas muy promisorias y su efecto podría relacionarse con las SC.

6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelalim, E. y Emara, M. Advances and challenges in the differentiation of pluripotent stem cells into pancreatic β cells [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 174-185, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Appaix, F., Nissou, M., van der Sanden, B., Dreyfus, M., Berger, F., Issartel, J. y Wion, D. Brain mesenchymal stem cells: The other stem cells of the brain? [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V6 N2: p 134-133, 2014. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Arvelo, F., Cotte, C. y Sojo, F. Células madre y cáncer [en línea]. **Investigación Clínica**, 55(4): 371-391, 2014. Disponible en: http://scholar.google.com/scholar_url?url=http%3A%2F%2Fwww.produccioncientifica.luz.edu.ve%2Findex.php%2Finvestigacion%2Farticle%2Fdownload%2F19111%2F19088&hl=es&sa=T&oi=gga&ct=gga&cd=44&ei=XZe5VLiHl_Ga0gHkjlGADg&scisig=AAGBfm3RuZlr9K3Wke4Q457QDHHil5OREA&noss1=1&ws=1225x712 [Fecha de consulta: 16 de enero de 2015].
- Baptista L., Silva K. y Borojevic R. Obesity and weight loss could alter the properties of adipose stem cells? [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 165-173, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Bartolucci, J., Verdugo, F., Larrea, R., Carrión, F., Lamich, R., Pedreros, P., Delgado, M., Sanhueza, P., Khoury, M. y Figueroa, F. Estado actual de la terapia con células madre en el tratamiento de las cardiopatías [en línea]. **Revista médica de Chile**, 142: 1034-1046, 2014. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v142n8/art11.pdf> [Fecha de consulta: 16 de enero de 2015].
- Bianco, P. Stem cell research in bone [en línea]. En: **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites. European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 31-34. 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].
- Brehm, M. y Strauer, B. Repairing the damaged heart: Stem cell research in acute heart attack and chronic coronary artery disease [en línea]. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 39-42, 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

- Cabrera, M., Hollingsworth, R. y Hurt, E. Cancer stem cell plasticity and tumor hierarchy [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 1-10, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Carmichael, W., Drapeau, C. y Anderson, D., Harvesting of *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Born. & Flah. var. flosaquae (Cyanobacteria) from Klamath Lake for human dietary use, [en línea] **Journal of Applied Phycology** 12: 585–595, 2000. Disponible en: [www.researchgate.net/publication/226882846_Harvesting_of_Aphanizomenon_flos-aquae_Ralfs_ex_Born._Flah._var._flos-aquae_\(Cyanobacteria\)_from_Klamath_Lake_for_human_dietary_use/file/e0b4952bb6f29eae56.pdf](http://www.researchgate.net/publication/226882846_Harvesting_of_Aphanizomenon_flos-aquae_Ralfs_ex_Born._Flah._var._flos-aquae_(Cyanobacteria)_from_Klamath_Lake_for_human_dietary_use/file/e0b4952bb6f29eae56.pdf) [Citado 2014-11-14].
- Cheng, K., Dai, X. y Wu, J. Alternative Splicing: An important mechanism in stem cell Biology [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 1–10, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Cossu, G. Stem cell research in skeletal muscle [en línea]. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 59–62, 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].
- da Silva, J., Rocha, N. y da Nóbrega, A. Movilización de Células Progenitoras Endoteliales con el Ejercicio en Sanos: una Revisión Sistemática [en línea]. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v 98(2): 182–191, 2012. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/abc/v98n2/es_v98n2a12.pdf [Fecha de consulta: 07 de enero de 2014].
- de Luca, M. Stem cell research in Epithelia [en línea]. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 47–50, 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].
- de Souza, G., Maranduba, C., de Souza, C., do Amaral, D., da Guia, F., Zanette, R., Rettore, J., Rabelo, N., Nascimento, L., Pinto, Í., Farani, J., Neto, A., Silva, F., Maranduba, C. y Atalla, A. Advances in cellular technology in the hematology field: What have we learned so far? [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 106–115, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Dimmeler, S. Stem cell research in vascular endothelia [en línea]. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 43-46. 2006. Disponible en:

http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Dimmeler, S. y Leri, A. Aging and Disease as Modifiers of efficacy of cell therapy [en línea]. **Circulation Research**. 102: 1319-1330, 2008. Disponible en: <http://circres.ahajournals.org/content/102/11/1319.full.pdf+html> [Fecha de consulta: 23 de diciembre de 2014]

Drapeau, C. **Crackink The Stem Cell Code**, Updated Edition, Mississauga, Ontario, The Natural Wellness Group, 2013a. 267 p.

Drapeau, C. Understanding the Natural Role of Stem Cells in the Body: A New Understanding of Disease Formation? [en línea]. **Journal Stem Cell Research & Therapy**, v3, i3, e116, 2013b. Disponible en: <http://omicsenline.org/understanding-the-natural-role-of-stem-cells-in-the-body-a-new%20understanding-of-disease-formation-2157-7633.1000e116.pdf> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Drapeau, C., Antarr, D., Ma, H., Yang, Z., Tang, L., Hoffman, R. y Schaeffer, D. Mobilization of bone marrow stem cells with StemEnhance® improves muscle regeneration in cardiotoxin-induced muscle injury [en línea]. **Cell Cycle** 9:9, p 1819–1823, 2010. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/cc.9.9.11540> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014]

Drapeau, C., Eufemio, G., Mazzoni, P., Roth, G. y Strandberg, S. The Therapeutic Potential of Stimulating Endogenous Stem Cell Mobilization [en línea]. **Tissue Regeneration - From Basic Biology to Clinical Application** Jamie Davies (Ed.) p 167–202, 2012. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/tissue-regeneration-from-basic-biology-to-clinical-application/the-therapeutic-potential-of-stimulating-endogenous-stem-cell-mobilization-> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Drapeau, C., Ma, H., Yang, Z. y Tang, L. The Stem Cell Mobilizer StemEnhance® Does Not Promote Tumor Growth in an Orthotopic Model of Human Breast Cancer [en línea]. **Anticancer Research**, 29: 443–448, 2009. Disponible en: <http://ar.iiarjournals.org/content/29/1/443.full> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Dzierzak, E. Somatic stem cells of the blood: Haematopoietic stem cells. [en línea] **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 27–30. 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Edlund, H. Stem cell research in pancreas [en línea]. En: **Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 55-58. 2006. Disponible en:

http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Ellison, G., Smith, A., Waring, Ch., Henning, B., Burdina, A., Polydorou, J., Vicinanza, C., Lewis, F., Nadal-Ginard, B. y Torella, D. Adult Cardiac Stem Cells: Identity, Lotion and Potential. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2nd ed., New York, Humana Press, 429 p, pp 47-96, 2014.

EMBO European Molecular Biology Organization. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**. 2006. [en línea] Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Fairbairn, N., Meppelink, A., Glazier, J., Randolph, M. y Winograd, J. Augmenting peripheral nerve regeneration using stem cells: A review of current opinion [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 11-26, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].

Firth, A., Fernandez, R. y Yuan, J. Adult Lung Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2nd ed., New York, Humana Press, 429 p, pp 287–318 2014..

Flores-Figueroa, E., Montesinos, J. y Mayani, H. Celulas troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica [en línea]. **Revista de Investigación Clínica**, Vol. 58 n5: 98-511, 2006. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762006000500011&lng=es&nrm=iso> . ISSN 0034-8376, [Fecha de consulta: 12 de enero de 2014].

Florio, T. Adult Pituitary Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. p 91-110. 2014.

Frisén, J. Stem cell research in brain and nervous system [en línea]. **Stem Cell Research, Status Prospects Prerequisites, European Molecular Biology Organization (EMBO)**, p 51-54. 2006. Disponible en: http://www.embo.org/documents/science_policy/stem_cell_research_2006.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Gagliardi, J., Bermejo, E., Galán, V., Marino, J., Lazzari, M. y Bertolasi, C. Evaluación de los niveles plasmáticos de células progenitoras en pacientes con enfermedad coronaria crónica [en línea]. **Revista Argentina De Cardiología**, V75 N6: 429-435, 2007. Disponible en: www.sac2.com.ar/web_files/download/revista_articulos/files/75-6-4-pdf-145.pdf [Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2014].

- Garcia, J., Mendonça L., Brant, R., Abud, M., Regatieri, C. y Diniz, B. Stem cell therapy for retinal diseases [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 160–164. 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- García-Olmo, D., Herreros-Marcos, D., Pascual-Miguelañez, I. y Pascual-Martínez, M. **Perspectivas para el uso clínico de las células madre**, 2006. [en línea] Disponible en: <http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/1605/29/1v0n1605a13087767pdf001.pdf> [Fecha de consulta: 16 de noviembre de 2014].
- Girolamo, N. Adult Human Corneal Epithelial Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2nd ed., New York, Humana Press, 429p. p 163-198. 2014.
- Gnecchi, M., Zhang, Z., Ni, A. y Dzau, V. Paracrine Mechanisms in Adult Stem Cell Signaling and Therapy [en línea]. **Circulation Research**, vol. 103: 1204-1219, 2008. Disponible en: <http://circres.ahajournals.org/content/103/11/1204.full.pdf+html> [Fecha de consulta: 23 de diciembre de 2014].
- González, T. **Análisis de metabolitos secundarios de *Lachemila orbiculata* (Ruiz & Pavón) Rydb. (Rosaceae) en dos localidades de los andes del Ecuador**. Disertacion (Licenciatura en Ciencias Biológicas). Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2011, 126 p.
- Griffin, M., Butler, P., Seifalian, A. y Kalaskar, D. Control of stem cell fate by engineering their micro and nanoenvironment [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 37–50. 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Handley, C, Goldschlager, T, Oehme, D, Ghosh, P y Jenkin, G. Mesenchymal stem cell tracking in the intervertebral disc [en línea]. **World Journal of Stem Cells**, V7 N1: 65-74 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Hernández, P. Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas [en línea]. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Medicina Transfusional**, V25 N1, 0-0 2009. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v25n1/hih02109.pdf> [Fecha de consulta: 16 de noviembre de 2014].
- Hernández, P. Medicina regenerativa y aplicaciones de las células madre: una nueva revolución en medicina [en línea]. **Revista Cubana de Medicina**. 50(4): 338-340, 2011. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v50n4/med01411.pdf> [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014]

- Jensen, G. y Drapeau, C. The use of in situ bone marrow stem cells for the treatment of various degenerative diseases [en línea]. **Medical Hypotheses** 59(4): 422–428, 2002. Disponible en: http://www.essential-foods.com/Afa-Studien/Med_Hypotheses.pdf [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].
- Jensen, G., Hart, A., Zaske, L., Drapeau, C., Gupta, N., Schaeffer, D. y Cruickshank, J. Mobilization of human CD34+CD133+ and CD34+CD133- stem cells in vivo by-consumption of an extract from *Afanizomenon flos-aquae* - related to modulation of CXCR4 expression by L-selectin ligand? [en línea]. **Cardiovascular Revascularization Medicine**, v.8: 189-202. 2007. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2862021/> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014]
- Labusca L., Zugun-Eloae F. y Mashayekhi K., Stem cells for the treatment of musculoskeletal pain, [en línea] **World Journal of Stem Cells**, V7 N1, p 96 – 105. 2015. [en línea] Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Lawrence, M., Toivanen, R., Takizawa, I., Gargett, C. y Risbridger, G. Adult Prostate Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. p 265-287. 2014.
- Macías-Abraham, C., Del Valle-Pérez, L., Hernández-Ramírez, P. y Ballester-Santovenia, J. Características fenotípicas y funcionales de las células madre. [en línea] **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia** vol26, n4: p 256 - 275, 2010. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000400002&lng=es&nrm=iso> ISSN 1561-2996 [Fecha de consulta: 12 de noviembre de 2014].
- Meng, J. y Morgan, J. Adult Stem Cells: Adult Skeletal Muscle Stem Cell, En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. p 31-46. 2014.
- Mikirova, N., Jackson, J., Hunninghake, R., Kenyon, J., Chan, K., Swindlehurst, C., Minev, B., Patel, A., Murphy, M., Smith, L., Ramos, F., Ichim, T. y Riordan, N. Nutraceutical augmentation of circulating endothelial progenitor cells and hematopoietic stem cells in human subjects, [en línea] **Journal of Translational Medicine**, 8: 34, 2010. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1479-5876-8-34.pdf> [Fecha de consulta: 25 de enero de 2015].
- Mushegyan, V., Hort, O., Klei, O. Adult Stem Cells in Teeth. En : Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. p 199-216. 2014.
- Nam H, Lee KH, Nam DH, Joo KM. Adult human neural stem cell therapeutics: Current developmental status and prospect, [en línea] **World Journal of Stem**

Cells, V 7 N1: 126 - 136, January 26, Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].

Prósper, F. **Células Madres Adultas, Congreso Nacional de Bioética, Canarias** "Estado actual de la investigación científica y ética en Células Madre" www.bioeticaweb.com. 2002. [en línea]. Disponible en <http://www.acabi.es/congreso/fprosper.pdf> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Prósper, F. y Herreros J. Células Madres adultas, [en línea] **Revista Argentina De Cardiología**, v. 72 N 1, 2004. Disponible en: www.sac2.com.ar/web_files/download/revista.../car1-11-pdf-677.pdf [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Prósper, F. y Verfaillie, C. **Células madre adultas: fuentes, características y perspectivas sobre su uso terapéutico**, 2000. [en línea] Disponible en: <http://www.fundacionmhm.org/pdf/mono4/Articulos/articulo1.pdf> [Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2014].

Ramírez, P., Alfonso-Simón, A., Aparicio-Suárez, J. Artaza-Sanz, H., Baganet-Cobas, A., Blanco-Díaz, A., Cabrera-Zamora, M., Cruz-Tamayo, F. Díaz-Díaz, A., Díaz-Ramírez, F., Dorticós-Balea, E., Fernández-Águila, J., García-Ibarra, R., Goicoechea-Díaz, P., González-Suárez, T., González-Iglesias, A., Hernández-Cañero, A., Lam-Díaz, R., León-Amado, L., Macías-Abraham, C. Macías-González, R., Martínez-de Pinillos, M., Obregón-Santos, A., Peix-González, A., Pérez-Borrego, A., Pol-Marró, N., Socarrás-Ferrer, B., Suárez-Monteagudo, C., Valle-Pérez, L. y Wilford-de LeónX, M., Experiencia cubana con el uso terapéutico de células madre adultas, [en línea] **Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia** 27(1), p 139 – 163. 2001. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v27n1/hih12111.pdf> [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Ramakrishnan, A., Pillai, M. y Torok-Storb, B. The Adult Stem Cell Niche. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. p 15-30. 2014.

Rodríguez- Prado V. Células madre: conceptos generales y perspectivas de investigación, [en línea] **Universitas Scientiarum Revista de la Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Javeriana**, Bogota, v10, N1 p 5 - 14, 2005. [en línea] Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4932> revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/download/4932/3807 [Fecha de consulta: 16 de noviembre de 2014].

Rueger MA, Schroeter M. In vivo imaging of endogenous neural stem cells in the adult brain. [en línea] **World Journal of Stem Cells**, V 7 N1, p 75 – 83. 2015.

[en línea] Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].

Russo, F., Burra, P., Parola, M., Adult Liver Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. 2014. p 319–338.

Salmen, S., Silva-Gutierrez, N., Bahsas-Zaky, R., Terán-Angel, G., Barboza, L., Padrón, K., Berrueta, L., Olávez, D., Solórzano, E., Calderón, A., Valencia-Molina, J., Soto-Parra, M., Volcanes, I., Paredes, E. y Rondon, M. Células progenitoras pluripotenciales: Características y compartimientos especializados de residencia, Avances en Biomedicina, [en línea] **Publicación Oficial del Instituto de Inmunología Clínica Mérida-Venezuela Suplemento**. p 26 – 38. 1 Octubre 2013, Disponible en: http://scholar.google.com/scholar_url?url=http%3A%2F%2Fpublica.saber.ul.ve%2Findex.php%2Fbiomedicina%2Farticle%2Fdownload%2F4601%2F4375&hl=es&sa=T&oi=gga&ct=gga&cd=14&ei=PY-5VIGGHOMz0AGLsYHoCw&scisig=AAGBfm22EpXeuEcxDRCJfR50gUZNM Y6PPQ&nossl=1&ws=1225x712 [Fecha de consulta: 16 de enero de 2015].

Santos, P. **Clonación humana: aspectos bioéticos y legales**, [en línea] Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Biología. Departamento de Genética, Memoria presentada para optar al grado de doctor. 2004. Disponible en: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/bio/ucm-t27583.pdf> [Fecha de consulta: 23 de febrero de 2015].

Si J., Wang X. y Shen S. Perinatal stem cells: A promising cell resource for tissue engineering of craniofacial bone, [en línea] **World Journal of Stem Cells**, V7 N1, p 149 - 159, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015]

Smith, R., Trafny, T. y Gomez, M. **The Healing Cell**, 1ra Edicion, New York, Center Street, 214 p. 2013.

Socarrás-Ferrer, B., del Valle-Pérez, L., de la Cuétara-Bernal, K., Marsán-Suárez, V., Sánchez Segura, M. y Macías-Abraham, C. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa, [en línea] **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, v29 n1 Ciudad de la Habana, p 16 - 23, 2013. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v29n1/hih03113.pdf> [Fecha de consulta: 30 de noviembre de 2014].

Stemtech, **A blend of and extract from *Aphanizomenon flos-aquae*, fucoidan from *Undaria pinnatifida* and an extract from *Polygonum multiflorum* leads to a significant mobilization of bone marrow stem cells**. [en línea] Disponible en: <http://74.115.92.38/public/us/science/SE2Study.pdf> Citado 2014-11-14] 2014a

Stemtech, **A nobel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from *Aphanizomenon flos-aquae* - potential role for stem cell biology in vitro and in vivo?** [en línea] Disponible en: <http://74.115.92.38/public/US/science/StemEnhanceStudy.pdf> [Citado: 2014-11-14] 2014b.

Tharmapalan, P. y Khokha, R. Adult Mammary Stem Cells: Identity, Location, and Functional Assays. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. 2014. p 217-238.

Taylor, D. y Robertson, M. The Basics of Cell Therapy to Treat Cardiovascular Disease: One Cell Does Not Fit All, [en línea] **Revista Española de Cardiología**, 62(09), p 1032 - 44 2009. DOI: 10.1016/S1885-5857(09)73269-4 Disponible en: <http://www.revespcardiol.org/en/the-basics-of-cell-therapy/articulo/13141971/> [Fecha de consulta: 14 de noviembre de 2014].

Valdespino-Gómez, V., Valdespino-Castillo, P. y Valdespino-Castillo, V. Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínicoquirúrgicos, [en línea] **Cirugía y Cirujanos** V82, N5, Mexico. 2014 Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2014/cc145p.pdf> [Fecha de consulta: 08 de diciembre de 2014]

Valero-Palencia, P., Nailet, A., Chacín, M., Añez, R., Toledo, A., Pacheco, M., Mujica, E., Mujica, A. y Bermúdez, V. Células madre: fundamentos y experiencias de terapia celular, [en línea] **Diabetes Internacional**. VIII. N° 1. 2011. Disponible en: www.researchgate.net/publication/249011579_Clulas_madre_fundamentos_y_experiencias_de_terapia_celular/file/e0b4951e36731780e2.pdf [Fecha de consulta: 29 de noviembre de 2014].

Virant-Klun, I., Stimpfel, M., Skutella, T. Adult Ovary Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. 2014. p 239-264.

Werner, N., Kosiol, S., Schiegl, T., Ahlers, P., Walenta, K., Link, A., Michael Böhm y Nickenig, G. Circulating Endothelial Progenitor Cells and Cardiovascular Outcomes [en línea]. **The new england journal of medicine**, vol. 353, pp 999-1007, 2005. Disponible en: <http://www.warrenhammer.com/storage/stem-cell/New-England-Journal-of-Medicine-Study-on-Ad.pdf> [Fecha de consulta: 16 de noviembre de 2014].

Wong, W., Joglekar, M., Satoor, S., Sahu, S., Parekh, V., Hardikar, A. Lineage-Committed Pancreatic Progenitors and Stem Cells. En: Turksen, Kursad, **Adult Stem Cells**, 2da edicion, New York, Humana Press, 429 p. 2014. p 339–358.

- Wongtrakoongate, P. Epigenetic therapy of cancer stem and progenitor cells by targeting DNA methylation machineries, [en línea] **World Journal of Stem Cells**, V7 N1, p 137 - 148 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Zack-Williams S., Butler P. y Kalaskar D. Current progress in use of adipose derived stem cells in peripheral nerve regeneration, [en línea] **World Journal of Stem Cells**, V7 N1, p 51 - 64, 2015. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/ejournals/WJSCv7i1.pdf> [Fecha de consulta: 24 de enero de 2015].
- Zapata, N. y García, F. Preguntas y Respuestas Sobre Medicina Regenerativa, [en línea] **Revista Ingeniería Biomédica**, Medellín Colombia. v 5, n10, p 23 - 30, 2011. [en línea] Disponible en: <http://repository.eia.edu.co/bitstream/11190/503/1/RBI00092.pdf> [Fecha de consulta: 15 de enero de 2015].

6. FIGURAS

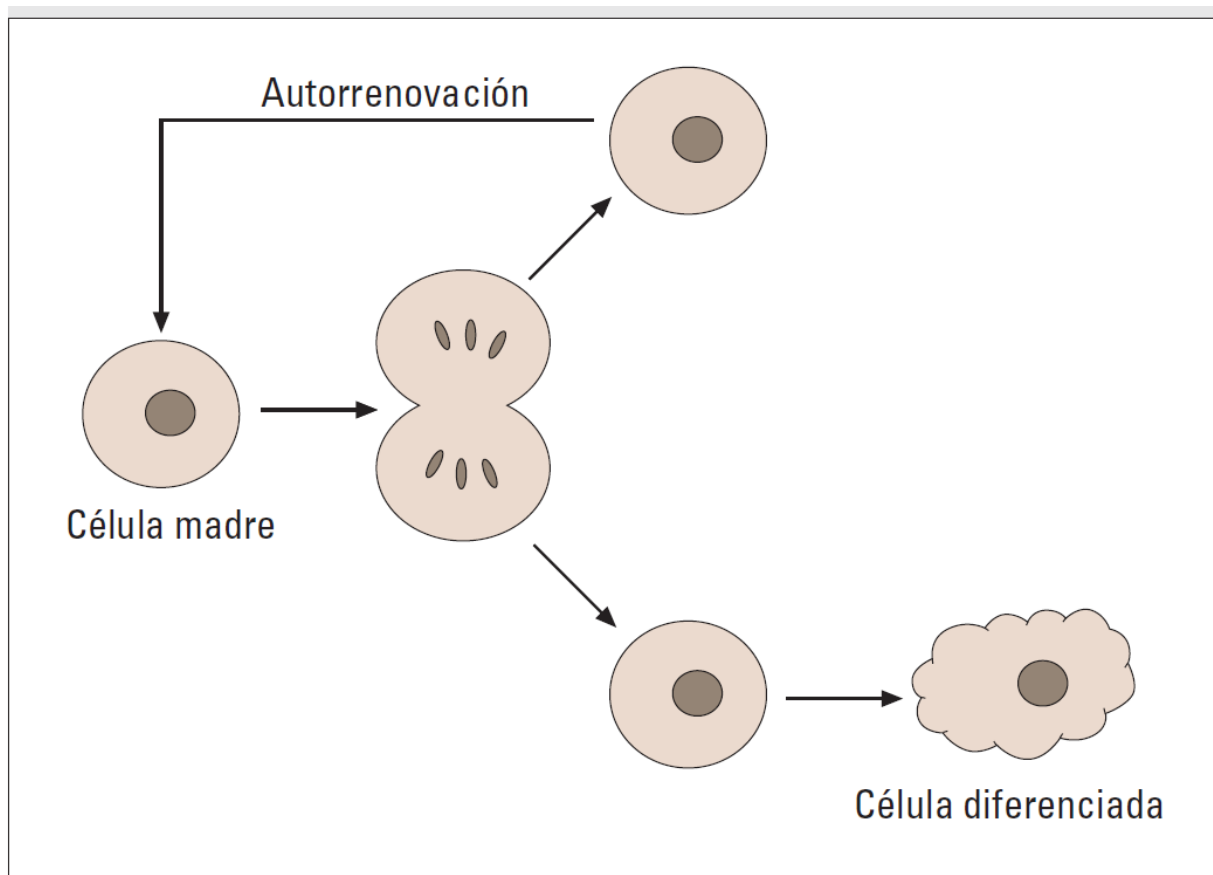


Figura 1. Representación esquemática del concepto de reproducción asimétrica que caracteriza a las células madre. Tomado de (García-Olmo *et al.*, 2006).

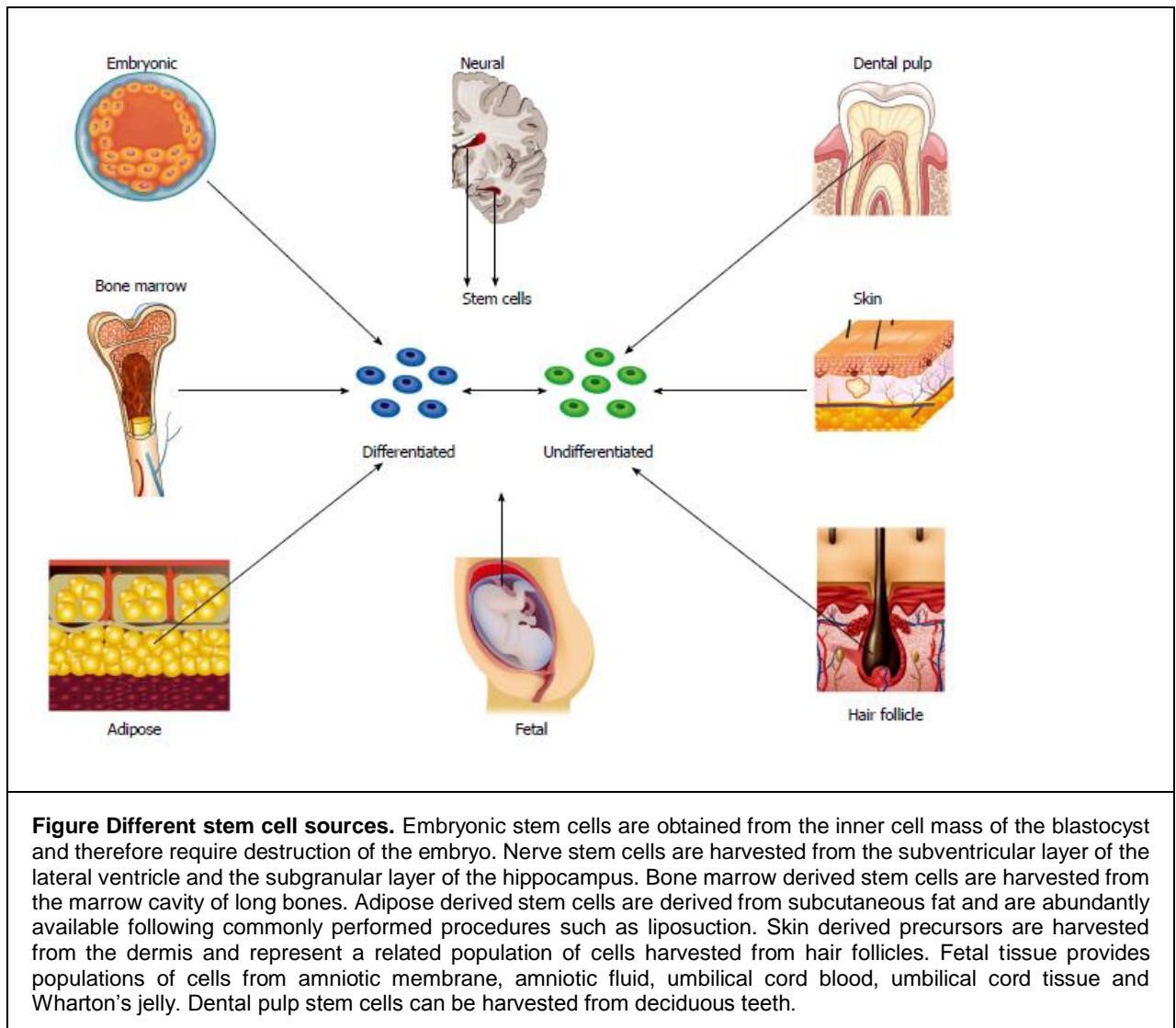


Figura 2. Diferentes fuentes de células madre. Células madre embrionarias se obtienen de la masa celular interna del blastocisto, por lo tanto requieren la destrucción del embrión. Células madre nerviosas se cosechan de la capa subventricular del ventrículo lateral y la capa subgranular del hipocampo. Células madre derivadas de médula ósea se recogen de la cavidad medular de los huesos largos. Células madre derivadas de tejido adiposo se derivan de la grasa subcutánea y están disponibles en abundancia después de procedimientos comúnmente realizados, como la liposucción. Células precursoras derivadas de la piel se cosechan de la dermis y representan una población relacionada de células recogidas de los folículos pilosos. Tejido fetal proporciona poblaciones de células de membrana amniótica, líquido amniótico, sangre del cordón umbilical, tejido del cordón umbilical y de la gelatina de Wharton. Células madre de la pulpa dental se pueden cosechar de los dientes deciduos. Tomado de (Fairbairn et al., 2015)

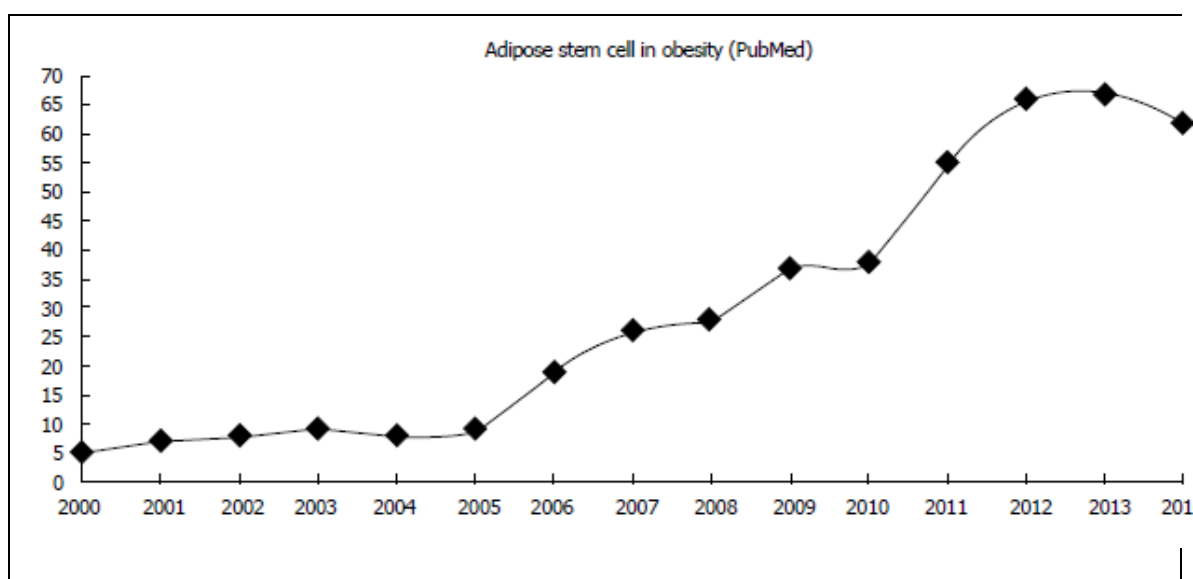


Figura 3. Número anual de publicaciones reportadas en la base de datos PubMed entre 2000 y 2014 con la frase “adipose stem cell in obesity”. Tomado de (Baptista *et al.*, 2015).

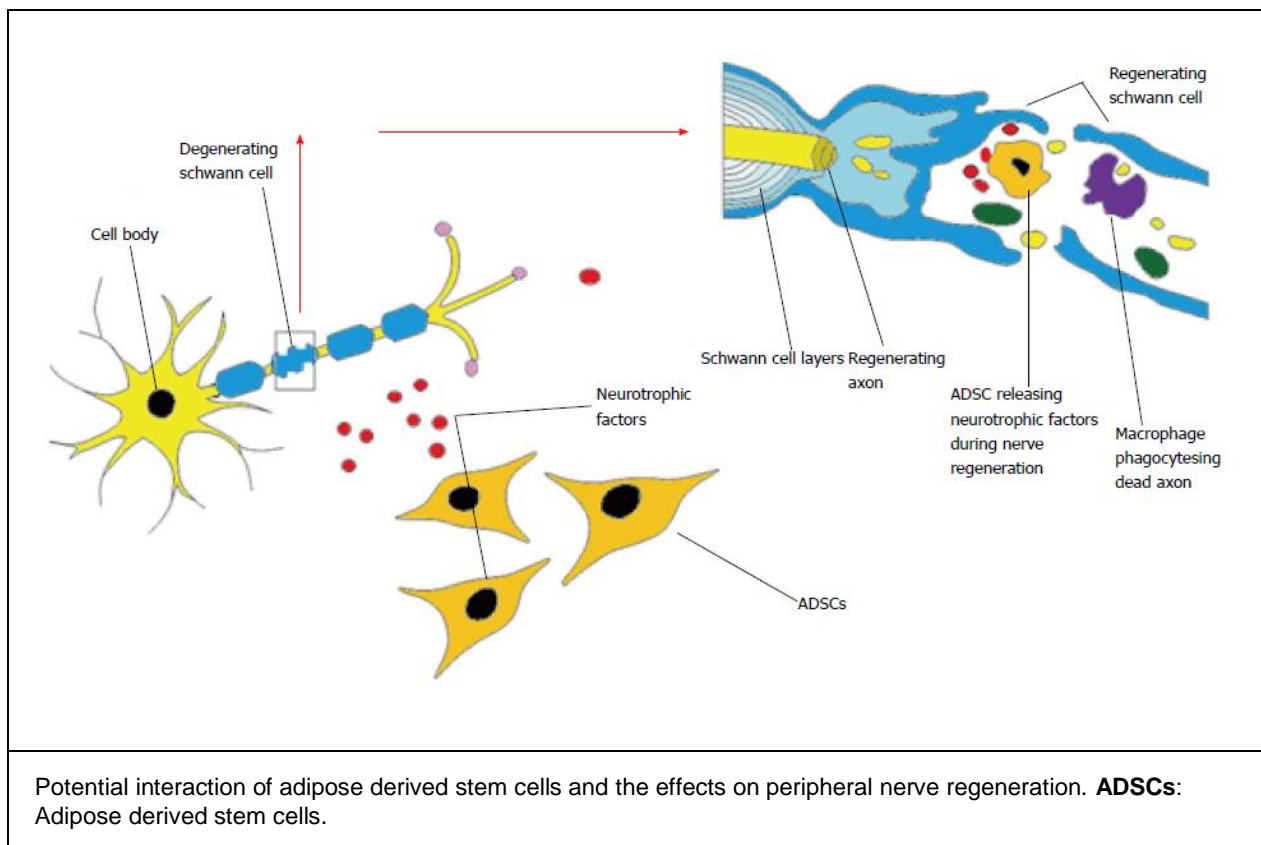


Figura 4. Interacción potencial de las células madre derivadas de tejido adiposo y sus efectos sobre la regeneración de los nervios periféricos. Tomado de (Baptista *et al.*, 2015).

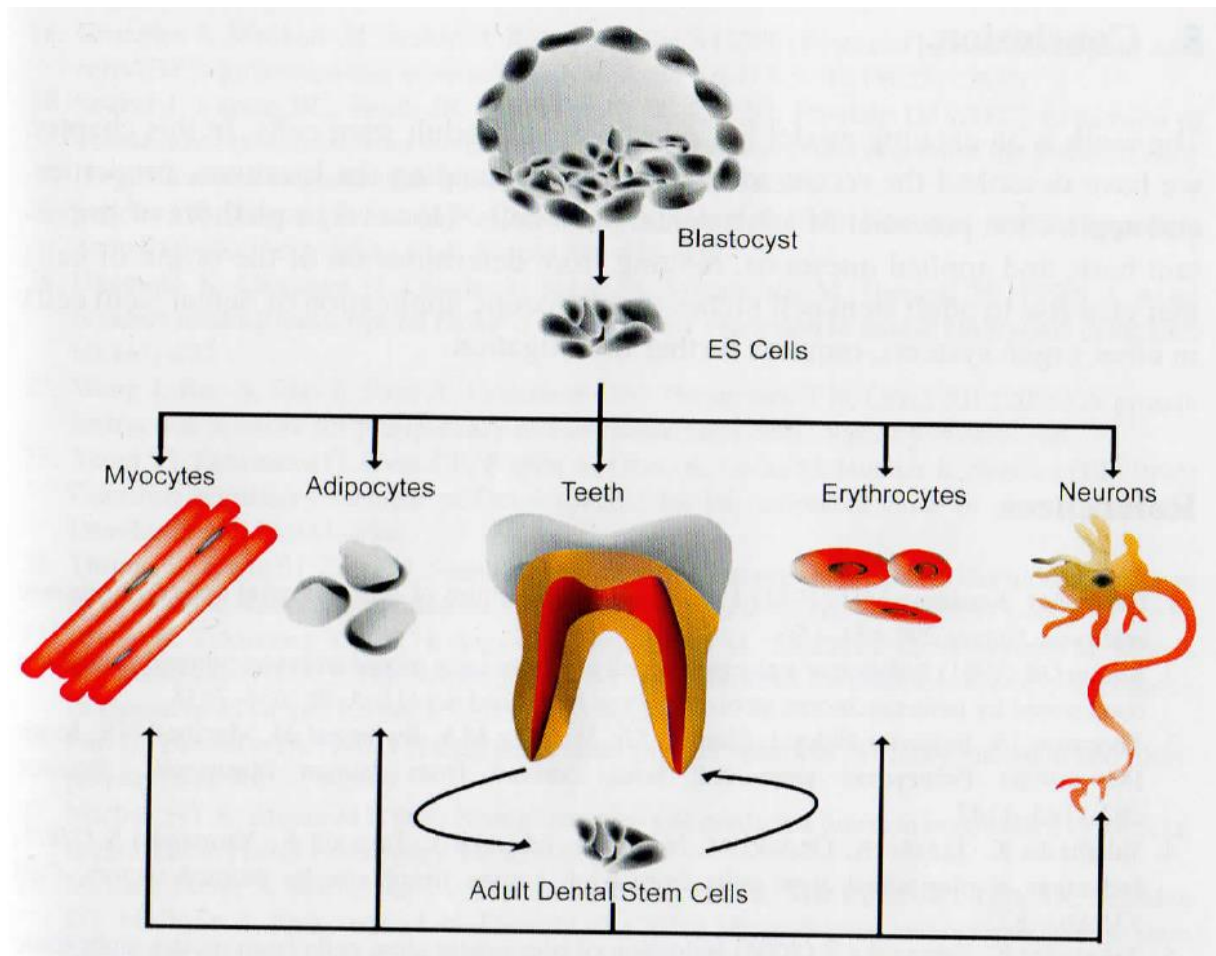


Figura 5. Potencial de diferenciación de las células madre dentales adultos. Las células madre embrionarias tienen el potencial de dar lugar a todos los tejidos del cuerpo, son obtenidas de la masa celular interna del blastocisto. Muchos tejidos adultos, a su vez, conservan poblaciones de células madre adultas con diferentes grados potenciales de diferenciación y transdiferenciación. Los dientes contienen varias poblaciones de células madre adultas que mantienen el potencial de regenerar, no sólo la estructura del diente en una capacidad limitada, sino también se regenerar los dientes en su totalidad, así como transdiferenciarse en otros tipos de tejidos. (Tomado de Mushegyan *et al.*, 2014)

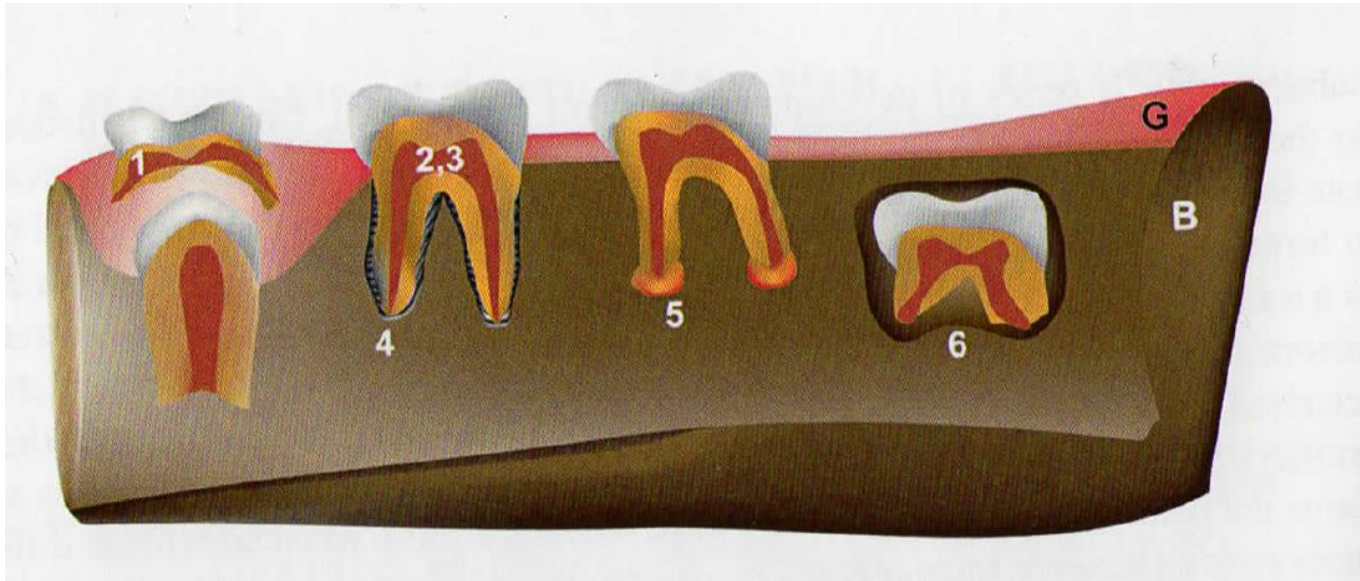


Figura 6. Ubicación de las células madre dentales adultas en los seres humanos.

Se observa: **G** encía. **B.** Hueso alveolar. Células madres de: (1) **SC** de los dientes deciduos humanos exfoliados (SHED); (2, 3) SC de la pulpa dental (**DPSC**) y SC pluripotentes pulpa dental (**DPPSC**); (4) SC del ligamento periodontal (**PDLSC**); (5) SC de la papila apical (**SCAP**); (6) SC del folículo dental (**DFSC**). Tomado de (Mushegyan *et al.*, 2014)

7. TABLAS

Tabla 1. Abreviaciones utilizadas en el texto.

Siglas	Inglés	Español
AFA	Aphanizomenon flos-aquae	<u><i>Aphanizomenon flos-aquae</i></u>
AMI	Acute Myocardial Infraction	Infarto agudo de miocardio
aNSC	Adult Neural Stem Cell	Célula madre adulta neuronal
ASC	Adult Stem Cell	Célula madre adulta
BMDC	Bone Marrow-Derived Cell	Célula derivada de medula ósea
BMSC	Bone Marrow Stem Cell	Célula madre de medula ósea
CE	Endothelial cell	Célula Endotelial
DPPSC	Dental Pulp Pluripotent Stem Cells	Célula madre pluripotente de pulpa dental
DPSC	Dental Pulp Stem Cells	Célula madre de pulpa dental
eCSC	Endogenous Cardiac Stem Cell	Célula madre cardiaca endógena
ESC	Embryonic Stem Cells	Célula madre embrionaria
G-CSF	Granulocyte Colony Stimulating Factor	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

Tabla 1. Abreviaciones utilizadas en el texto. (Continuación)

Siglas	Inglés	Español
HSC I	Hematopoietic Stem Cell	Célula madre hematopoyética
iPSC	Induced Pluripotent Stem Cell	Célula madre pluripotente inducida
MSC	Mesenchymal Stem Cells - Marrow Stromal Cell	Célula madre mesenquimal o de estroma de medula
PBSC	Peripheral Blood Circulation Stem Cell	Célula madre de circulación periférica
SC	Stem Cells	Célula madre
SCNT	Somatic Cell Nuclear Transfer	Transferencia nuclear de célula somática
SDF-1	Stromal-Derived Factor-1	Factor derivado de estroma - 1
SSC	Skeletal Stem Cell	Célula madre de esqueleto
TCSC	Tissue Committed Stem Cell	Célula madre comprometida con un tejido

Tabla 2. Comparación directa entre células madre embrionarias y adultas.

Células Madre Embrionarias	Células Madre Adultas
Son un componente ubicuo del embrión, se entiende bien su función e historia de vida.	Son poco frecuentes, a menudo difíciles de identificar, de origen desconocido, se comprende solo parcialmente su función e historia de vida.
Se definen por la posición dentro del embrión (la masa interna de células del blastocisto).	Se definen por una lista compleja de características tales como marcadores de la superficie celular, comportamiento in vitro, y en algunos casos, la posición en el tejido.
Se pueden dividir simétricamente indefinidamente en cultivo sin cambiar sus características.	Se puede dividir pocas o muchas veces en cultivo (hasta 200 o más), pero no indefinidamente.
Una sola célula puede dar lugar a una colonia de células genéticamente idénticas, con las mismas propiedades que la célula original.	En algunos tejidos, se puede identificar y cultivar de manera absolutamente consistentes células precursoras; queda pendiente demostrar su existencia en todos los tejidos.
Pluripotentes: puede dar lugar a los tres tipos de tejidos del embrión (endodermo, mesodermo y ectodermo).	A veces multipotentes: la mayoría sólo dará lugar a tejido de su capa embrionaria de origen, pero algunas pueden ser capaces de origen a células de diferentes capas; de endodermo, mesodermo y ectodermo (plasticidad)

Tomado de (EMBO, 2006)

Tabla 3. Ejemplos de estudios, que han demostrado la topografía de superficies puede dirigir diferenciación de las células madre.

Examples of studies, which have demonstrated surface topographies can direct stem cell differentiation

Stem cell source	Scaffold type	Description of topographical feature	Differentiation outcome	Ref.
hMSC	PDMS	Islands	Large 10000 μm^2 islands promoted osteogenesis. Small 1024 μm^2 island promoted adipogenesis	McBeath <i>et al</i> , 2004
hMSC	TiO ₂ nanotubes	30-, 50, -70 and 100 nm nanotubes	70-100 nm nanotubes promoted osteogenesis	Oh <i>et al</i> , 2009
hMSC	PMMA	Ordered and disordered square or hexagonal pattern and Nanopits	Disordered squared promoted osteogenesis	Dalby <i>et al</i> , 2007
hBMDSC	Hydrogenated amorphous carbon	Grooves	Neurogenesis	D'Angelo <i>et al</i> , 2010
mESC	PLLA	Grating	Osteogenesis	Smith <i>et al</i> , 2009
hMSC	PDMS	Grating	Neurogenesis	Yim <i>et al</i> , 2007
hESC	PDMS	Micropatterned fibronectin with square shape surrounded by Pluronic F127	Myogenesis and chondrogenesis	Gao <i>et al</i> , 2010
hMSC	PDMS	Micropatterned with striped groove morphology coated with collagen type I	Myogenesis	Kurpinski <i>et al</i> , 2006

Tabla 3. Ejemplos de estudios, que han demostrado la topografía de superficies puede dirigir diferenciación de las células madre. (Continuación)

Stem cell source	Scaffold type	Description of topographical feature	Differentiation outcome	Ref.
hNSC	PDMS	Micropatterned with striped groove morphology coated with PLL and laminin.	Neuronal	Béduer <i>et al</i> , 2012
hMSC	PDMS	Micropatterned with striped groove morphology coated with collagen type I	Neuronal	Biehl <i>et al</i> , 2009
hESC	PDMS	Groove	Neuronal	Lu <i>et al</i> , 2014
hMSC	PCL	Nanopillar, nanohole and nanogrill	Nanopillar and nanohole topography enhanced	Wu <i>et al</i> , 2014
hNSC	PUA	PUA	MSC chondrogenesis and facilitated hyaline cartilage.	Yang <i>et al</i> , 2013
rMSCs	Polystyrene	Groove	Neuronal	
			Myogenesis and adipogenesis	Wang <i>et al</i> , 2012

hESC: Human embryonic stem cell; **hMSC:** Human mesenchymal stem cell; **rMSCs:** Rat mesenchymal stem cell; **hNSC:** Human neural stem cell; **hBMDS:** Human bone marrow derived stem cell; **mESC:** Mouse embryonic stem cell; **PMMA:** Polymethyl methacrylate; **PDMS:** Polydimethylsiloxane; **PCL:** Polycaprolactone; **PUA:** Polyurethane acrylate; **PLL:** Poly-L-lysine; **PLLA:** Poly(L-lactide).

. Tomado de (Griffin *et al*, 2015)

Tabla 4. Ejemplo de estudios que han demostrado que el uso de diferentes químicos puede dirigir la diferenciación de las células madre

Example of studies, which have demonstrated that the use of different chemical inducers can direct stem cell differentiation			
Immobilised chemical inducer	Scaffold type	Functional group	Differentiation outcome
Chemical group	Silk fibroin	-COO-	hMSC osteogenic differentiation
	Silk fibroin	=C=O	hMSC osteogenic differentiation
	Silk fibroin	SO ₃ H	hMSC osteogenic differentiation
	PEG	PO ₃	Increase in hMSC osteogenic markers at gene and protein level
	Silk fibroin	NH ₂	hMSC osteogenic differentiation
	Silk fibroin	CH ₃	hMSC osteogenic differentiation
	Glass	COOH, CH ₃ , OH, NH ₂	-NH ₂ support hMSC osteogenic differentiation
	Glass	OH, SO ₃ H, NH ₂ , COOH, SH and CH ₃	-NH ₂ support hNSC differentiation
	Glass	CH ₃ , NH ₂ , SH, OH and COOH	NH ₂ and -SH- promoted and maintained hMSC Osteogenesis, -OH and -COOH promoted and maintained chondrogenesis

Tabla 4. Ejemplo de estudios que han demostrado que el uso de diferentes químicos puede dirigir la diferenciación de las células madre. (Continuación...)

Immobilised chemical inducer	Scaffold type	Functional group	Differentiation outcome	Ref
Molecule	PLGA	BMP-2	hMSC osteogenic differentiation	Ko <i>et al.</i> , 2013
	PLLA	BMP-2	hMSC osteogenic differentiation	Beazley <i>et al.</i> , 2014
	Collagen-PLGA hybrid	Collagen-binding domain derived from fibronectin (CBD-BMP4)	hMSC osteogenic differentiation	Lu <i>et al.</i> , 2012
	Methacrylamide chitosan hydrogel coated glass substrates	Laminin and collagen	Supported hNSC differentiation	Wilkinson <i>et al.</i> , 2014
	PMMA-g-PEG	EGF	MSC osteogenic differentiation	Platt <i>et al.</i> , 2009
	Agarose	PDGF-AA	MSC neural differentiation	Aizawa <i>et al.</i> , 2008
	PCL/PCL-PEG	NGF	MSC neural differentiation	Cho <i>et al.</i> , 2010
	Chitosan/collagen IV	VEGF	Endothelial differentiation	Chiang <i>et al.</i> , 2010, Poh <i>et al.</i> , 2010, Rahman <i>et al.</i> , 2010

Tabla 4. Ejemplo de estudios que han demostrado que el uso de diferentes químicos puede dirigir la diferenciación de las células madre. (Continuación)

Immobilised chemical inducer	Scaffold type	Functional group	Differentiation outcome	Ref
Peptide sequence	Alginate	Osteopontin peptide	Increase in hMSC osteogenic markers	Lee <i>et al.</i> , 2007
	HA-PLG	Osteopontin peptide	Increase hMSC osteogenic markers	Lee <i>et al.</i> , 2010
	PLGA	BMP-2 peptide	Increase rMSC ALP expression in osteogenic medium and promotion of ectopic bone formation <i>in vivo</i>	Lin <i>et al.</i> , 2010
	RGD	BCP/PLA	hMSC osteogenic differentiation	Shin <i>et al.</i> , 2014

hESC: Human embryonic stem cell; **hMSC:** Human mesenchymal stem cell; **rMSCs:** Rat mesenchymal stem cell; **hNSC:** Human neural stem cell; **PEG:** Polyethylene glycol; **HA-PLG:** Hydroxyapatite (HA)/poly(lactic-co-glycolic acid); **BMP:** Bone morphogenetic protein; **PLGA:** Poly(lactic-co -g lycolic acid); **PLA:** Poly(lactic acid); **PLLA:** Poly(L-lactide); **PCL:** Polycaprolactone; **PMMA-g-PEG:** Poly(methyl methacrylate)-graft-poly(ethylene glycol); **BCP:** Biphasic calcium phosphate; **EGF:** Epidermal growth factor; **NGF:** Nerve growth factor; **PDGF-AA:** Platelet-derived Growth Factor AA; **VEGF:** Vascular endothelial growth factor.

Tomado de (Griffin *et al.*, 2015)

Tabla 5. Características de las poblaciones eCSC residentes identificados en el corazón (eCSC células madre cardíacas endógenas).

In vitro stem cell properties						
Phenotype	Expression	Species	Self renewal	Cardiomyocyt differentiation	Multipotency	In vivo cardiac regenerative potential
c-kit	Nkx2.5, MEF2C, GATA4, Sca-1, MDR-1, CD90, CD133, CD166, Flk-1, Nestin, Nucleostemin, Oct3/4, SSEA-4, Nanog, Bmi-1, TERT	Adult Rat Neonatal and Adult Mouse Adult Porcine Adult Dog Post-natal and Adult Human	Yes	Yes	Yes	Yes
Cardiosphere derived	CD105, CD90, CD34, CD31, ckit, MDR-1, Nanog, Flk-1, GATA4, SSEA-4, Pax6 5, PCNA 5, DDR2, Oct4, Sox2, Klf4, GATA4, Nkx2.5, Isl-1	Neonatal and Adult Rodent Neonatal and adult Human Adult Dog Adult Primate Adult Porcine	Yes Yes ND ND ND	Yes Yes Yes Yes Yes	Yes Yes Yes Yes ND	Yes Yes ND Yes Yes
Sca-1	CD31, CD29, Pdgfra, CD45, c-kit, Isl-1, CD105	Neonatal and Adult Mouse Foetal and Adult Human	Yes ND	Yes Yes	Yes ND	Yes Yes

Tabla 5. Características de las poblaciones eCSC residentes identificados en el corazón. (Continuación)

In vitro stem cell properties						
Phenotype	Expression	Species	Self renewal	Cardiomyocyte differentiation	Multipotency	In vivo cardiac regenerative potential
Epicardial	c-kit, MDR-1, CD34, GATA4, Nkx2.5, Sca-1, CD44, CD90, CD 105, Tbx18, Wt1, Isl1	Fetal, Adult Human	ND	Yes	Yes	ND
		Adult Rat	ND	No	No	ND
		Fetal, Adult Mouse	Yes	Yes	Yes	Yes
		Fetal Chick	Yes	Yes	Yes	ND
Side population	Scal, c-kit, CD31, Tiel1/2, Nkx2.5, Gata4	Neonatal and Adult Mouse	Yes	Yes	Yes	Yes
Isl 1	CD31, Sca-1, CD144, Flk1, GATA-4, Nkx2.5	Fetal, Post-natal, and Adult Mouse	Yes	Yes	Yes	ND
		Fetal, Postnatal and Adult Rat	ND	Yes	ND	ND
		Fetal and Yes Post-natal [58, 70, Human	Yes	Yes	Yes	ND

Tomado de (Ellison *et al.*, 2014)

Tabla 6. Células madre adultas neuronales, métodos de aislamiento y de cultivo *in vitro*.

Isolation and in vitro culture methods for adult neural stem cells					
Culture methods	Cell source	Dissociating method	Media composition	Plate coating	Maximal <i>in vitro</i> culture
Adherent culture method	Temporal lobe	Physical Mincing and enzymatic digestion with papain	DMEM/F12 supplemented with 10 ng/mL bFGF, 20 ng/mL TGF α , 2.5 μ g/mL heparin, 2% B27 (without retinoic acid), 10 mmol/L hepes, and 1% FBS		
	Temporal lobe	Mechanical trituration and enzymatic dissociation using papain and DNase I	DMEM/F12 supplemented with 1% B27, 50 ng/mL EGF, 50 ng/mL bFGF, and 0.5% FBS	Poly-Lornithine	18 passages
Neurosphere culture method	Hippocampal and lateral ventricle wall tissue	Mechanical dissociation and enzyme digestion using hyaluronic acid, kynurenic acid, and trypsin	DMEM/F12 supplemented with 10 ng/mL EGF, 20 ng/mL EGF, B27, and 2 mmol/L glutamine		
	Temporal lobe	Enzymic digestión with trypsin	N2 medium supplemented with 5% FBS	Poly-2- hydroxyethyl methacrylate	

Tabla 6. Células madre adultas neuronales, métodos de aislamiento y de cultivo in vitro. (Continuación...)

Culture methods	Cell source	Dissociating method	Media composition	Plate coating	Maximal <i>in vitro</i> culture
Neurosphere culture method	Hippocampus Amygdala Frontal cortex Temporal cortex	Enzymic digestion with hyaluronidase, kynurenic acid, and trypsin	DMEM/F12 supplemented with 0.6% glucose, 2 mmol/L glutamine, 3 mmol/L sodium bicarbonate, 5 mmol/L HEPES buffer, 25 mg/mL insulin, 10 mg/mL heparan sulfate, 100 mg/mL transferrin, 20 nmol/L progesterone, 60 mmol/L putrescine, 30 nmol/L selenium chloride, 20 ng/mL EGF, and 20 ng/mL bFGF-2		
	Temporal lobe from 11-wk-old postnatal male Hippocampus, ventricular zone, motor cortex and corpus callosum from a 27-year-old male	Enzymic digestion with papain, DNase I, and neutral protease	Initially, DMEM/F-12 supplemented with glutamine and 10% FBS After 24 h, DMEM/F12 supplemented with BIT-9500 (bovine serum albumin, transferrin, insulin, 20 ng/mL bFGF, 20 ng/mL EGF, and 20 ng/mL PDGF-AB) and 25% conditioned medium from rat stem cells that produces secretory bFGF and glycosylated form of cystatin C	Fibronectin	More than 70 population doublings in the 11-wk-old postnatal male More than 30 population doublings in the 27-year-old male

Tabla 6. Células madre adultas neuronales, métodos de aislamiento y de cultivo in vitro. (Continuación)

Culture methods	Cell source	Dissociating method	Media composition	Plate coating	Maximal <i>in vitro</i> culture
Neurosphere culture method	Temporal lobe	Mechanical dissociation and enzyme digestion with DNase I and trypsin	DMEM/F12 supplemented with 1 mol/L HEPES, 2% B27, 0.1% EGF, and 0.1% bFGF		11 mo
	Temporal lobe	Enzymic digestion with Papain and DNase I	DMEM/F12 supplemented with bFGF and EGF		3–6 wk
	Lateral ventricular roof	Mechanical dissociation and enzyme digestion with DNase I and trypsin	DMEM/F12 supplemented with bFGF, EGF, and B27		3–7 wk
	Hippocampus containing hilus, temporal cortex, and subventricular zone including anterior horn and segmented lateral ventricle	Physical mincing and enzyme digestion with trypsin	DMEM/F12 supplemented with N2, 35 µg/mL bovine pituitary extract, 5% fetal calf serum, 40 ng/mL EGF, and 20 ng/mL bFGF		> 60 population doublings
	Biopsies from filum terminale below conus medullaris	Physical mincing and enzyme digestion with trypsin	DMEM/F12 supplemented with B27, 10 ng/mL LIF, 10 ng/mL bFGF, and 20 ng/mL EGF	Ultra-low attachment dish	

TGFa: Transforming growth factor alpha; **DMEM/F12:** Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12; **FBS:** Fetal bovine serum; **bFGF:** Basic fibroblast growth factor; **EGF:** Epidermal growth factor.

Tomado de (Nam *et al.*, 2015)

Tabla 7. Resultados preclínicos de células madre neurales adultas contra enfermedades neurodegenerativas

Preclinical results of adult neural stem cells against neurodegenerative diseases				
Targeted disease animal model	Cell source	Injection method	Result	Animal species
Demyelinated spinal cord injury	Frontal cortex, temporal cortex, hippocampus, and subventricular/subependymal zone of frontal lobe	The midline of the dorsal columns of the spinal cord at three longitudinal sites	The cells elicited extensive remyelination with a peripheral myelin pattern similar to Schwann cell myelination. The remyelinated axons conducted impulses at near normal conduction velocities	Rat
Multiple sclerosis (lysolecithindemyelinated brain)	Temporal lobe	Local injection to demyelinated brain regions	Transplanted cells migrated to lesions without extending into normal white matter. Implanted progenitors matured as oligodendrocytes, and developed myelin-associated antigens	Rat
Global brain ischemia	Temporal lobe	The posterior periventricular region above the hippocampus	Adult human NPCs survived, migrated into ischemic regions, and differentiated into functional neural cells. No information about therapeutic effects	Rat
Global brain ischemia	Temporal lobe	Left hippocampus. After <i>in vitro</i> differentiation	Injected cells migrated preferentially into an ischemic lesion, which was mediated by SDF-1 α and CXCR4 signaling pathways. No information about therapeutic effects	Rat
Focal ischemic stroke	Temporal lobe	Contralateral lateral ventricle	Transplanted cells reduced infarction volumes and enhanced motor activity	Rat

Tomado de (Nam *et al.*, 2015)

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos.

Summary of current evidence assessing the efficacy of different types of stem cell on peripheral nerve regeneration					
Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system Outcome
Embryonic	Cui <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (10 mm gap)	D	Culture medium	Epineurium natural conduit Cell survival and differentiation into SCs after 3-mo; superior regeneration of myelinated axons in comparison to culture media alone
	Lee <i>et al.</i>	Mouse sciatic transection (2 mm gap)	U	Matrigel	Direct injection of microspheres ESC-derived MSC sphere-treated nerves recovered significantly greater CMAP, SFI and histological parameters than ESC-MSC single cell suspension
	Kubo <i>et al.</i>	Mouse tibial	D	PBS	Direct injection into gastrocnemius muscles following nerve transection and repair Co-culture identified formation of new NMJs; muscle transplanted with stem cells experienced less atrophy 7 and 21-d post injury; cells transplanted after 2-wk were unable to provide any protective effect; motor recovery following repair superior in those muscles receiving stem cells
	Craff <i>et al.</i>	Rat sciatic + gastrocnemius muscle	D	PBS	Direct injection into gastrocnemius muscles following nerve transection Muscles injected with stem cells retained muscle weight preservation and myocyte cross sectional area in comparison to control muscle after 7-d post injury. New NMJs observed. Benefits lost after 21 d

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Neural	Fu <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap; gene transfection)	U (gene therapy)	Culture medium (cells seeded directly onto conduit wall)	Poly(D,L-Lactide) conduit	Enhanced expression of BDNF and GDNF in transfected cells; conduits with transfected cells led to larger myelinated axons and improved functional and electrophysiological outcome
	Zhang <i>et al.</i>	Rabbit facial nerve transection (5 mm gap)	U	Collagen medium	HA-collagen composite conduit	Conduits with NSCs and NT-3 xperienced superior outcomes in comparison to NSC alone; results equivalent to normal nerves after 12-wk
	Murakami <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap)	U	Collagen gel	Silicone conduit	NSCs differentiated into astrocytes, oligodendrocytes and schwann cell-like cells; dNCSs implanted into 15 mm defects; Improved axon number, diameter and myelination compared with controls; labeled cells present after 10-wk; expressed markers of SC phenotype
	Guo <i>et al.</i>	Rabbit facial nerve transection (10 mm gap)	U	Collagen sponge	Chitosan conduit	Electrophysiological and histological outcomes and immunohistochemistry superior in chitosan conduits seeded with NSCs and NGF in comparison to conduit+NGF alone. Results comparable to standard autograft
	Liard <i>et al.</i>	Pig nervus cruralis transection (30 mm gap)	U	Neurosphere in culture medium	Autologous veingraft	Grafts containing NSCs recovered superior EMG recording and immunohistochemistry profiles in comparison to empty conduits; NSCs identifiable after 240 d follow-up.
	Johnson <i>et al.</i>	Rat sciatic crush, transection, (10 mm gap)	U (C17,2)	Culture medium	Direct injection	12/45 rodents developed neuroblastomas

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Bone Marrow	Zhao <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap)	U	Fibrin glue	ANA	Survival of BMSCs within fibrin glue; growth factor secretion preserved (NGF, BDNF); equivalent results when cells injected directly into nerve compared with around nerve
	Hu <i>et al.</i>	Monkey median transection (50 mm gap)	U	Culture medium	Chitosan conduit with longitudinally aligned PGLA fibers	Functional and electrophysiological recovery and FG retrograde tracing after 1-year with BMSC-laden conduits equivalent to autograft and superior to empty conduits
	Dezawa <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap)	U + D	Matrigel	Matrigel graft	Successful differentiation into SC phenotype; Axon number and elongation superior with dBMSCs
	Jia <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (10 mm gap)	U	Gelatin	Acellular xenograft	Neurotrophic factor expression elevated in BMSC xenografts; regeneration and functional recovery significantly better than empty xenografts and equivalent to autograft
	Mohammadi <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (10 mm gap)	U	Culture medium	Vein graft	Veins filled with uBMSCs had significantly improved functional, histological and immunohistochemical outcomes compared with veins filled with PBS
	Nijhuis <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap)	U	Culture medium	Vein graft +/- muscle	BMSC identifiable after 6 and 12-wk follow-up; vein graft + muscle + BMSCs outperformed vein graft+muscle but inferior to autograft
	Salomone <i>et al.</i>	Rat facial nerve transection (3 mm gap)	U + D	Matrigel	Silicone conduit	Histological outcomes superior in conduits containing uBMSCs and dBMSCs compared to empty and matrigel containing conduits; functional outcomes superior using uBMSCs
	Wang <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (15 mm gap)	U	Culture medium	Direct injection into ANA	BMSC produced NGF and BDNF; CSPGs reduced in grafts treated with ChABC Allograft containing BMSCs and ChABC resulted in superior functional, electrophysiological and histological outcome compared with BMSC alone

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Adipose	di Summa et al.	Rat sciatic transection (10 mm gap)	D	Culture Médium	Fibrin glue conduit	Reduced muscle atrophy in autograft, dADSC and dBMSC groups in comparison to empty conduits; dADSCs recovered greatest axon and fiber diameter, evoked potentials and regeneration of motoneurons; results comparable to autograft
	Tomita et al.	Rat common peroneal nerve transection (no gap)	D	Culture Médium	Direct injection into distal nerve	dADSCs survived for at least 10 wk <i>in vivo</i> ; dADSCs associated with axons and participated in re-myelination; dADSCs resulted in regeneration superior to cultured SCs
	Zhang et al.	Rat sciatic transection (10 mm gap)	D	Collagen gel	Xenogeneic acellular graft	dADSCs formed columns resembling bands of Bünchner and expressed NGF, BDNF and GDNF; axon regeneration, retrograde labeling and electrophysiology were similar between dADSCs and SC supplemented grafts, superior to empty grafts but inferior to standard autograft
	Mohammadi et al.	Rat sciatic transection (10 mm gap)	U	Culture medium	Vein graft	No difference in functional, morphometric or immunohistochemistry between ADSCs and BMSCs
	Erba et al.	Rat sciatic transection (10 mm gap)	U	Fibrin	PHB conduit	Lack of sufficient quantities of viable cells 14-d after transplantation; conclusion that regenerative effect due to initial growth factor boost or paracrine effect on resident cells
	Sun et al.	Rat facial transection (8 mm gap)	D	Matrigel	Decellularized allogeneic artery	dADSCs persisted at repair site and integrated with regenerated tissue; conduits containing dADSCs achieved results comparable to those of SC-containing conduits and superior to matrigel-containing conduits alone; results inferior to autograft

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Fetal	Pan <i>et al.</i>	Rat sciatic crush	U	Fibrin Glue	Direct injection at Site	High expression of BDNF, CNTF, NGF and NT-3 found in AFMSCs; motor function, CMAP and conduction velocity improved in those nerves augmented with AFMSCs; high levels of S-100 and GFAP and reduced fibrosis found at repair site
	Pan <i>et al.</i>	Rat sciatic crush	U	Fibrin Glue	Direct injection at Site	HBO therapy reduced production of inflammatory cytokines and macrophage chemokines following crush injury; when administered with AFMSCs, HBO reduced apoptosis of AFMSCs in comparison to AFMSCs alone; myelination and motor recovery superior in HBO + AFMSC group
	Pan <i>et al.</i>	Rat sciatic crush	U	Fibrin glue	Direct injection at Site	Anti-apoptotic, anti-inflammatory agent G-CSF, when administered with AFMSCs, reduced crush-induced inflammation, and apoptosis in comparison to AFMSCs alone; myelination and motor function superior with AFMSCs + G-CSF in comparison to AFMSCs alone
	Matsuse <i>et al.</i>	Rat sciatic nerve transection (8 mm gap)	U + D	Matrigel	"Transpermeable" tube	Differentiated UC-MSCs regenerated greater number of myelinated axons and thicker nerve fibers compared with undifferentiated UCMSCs; number of labeled cells greater in dUC-MSC nerves; results comparable to SC group
	Cheng <i>et al.</i>	Rat sciatic crush	U	Matrigel	Direct injection at site	AFMSCs successfully transfectected; high expression of GDNF detected for 4 wk before subsiding; GDNF-modified AFMSCs recovered greatest SFI, conduction velocity, CMAP and muscle weight in comparison to AFMSCs alone
	Gärtner <i>et al.</i>	Rat sciatic crush	D	Culture medium	Cells seeded onto PLC wrap	Wraps seeded with UC-MSCs resulted in superior increased myelin thickness, motor and sensory function in comparison to unseeded wraps

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Skin	McKenzie <i>et al.</i>	Mouse sciatic crush	D/U	Culture Medium	Direct injection at site	SKPs successfully induced into SKP-SCs; SKP and SKP-SCs associated with and myelinated axons
	McKenzie <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (16 mm gap)	D	PBS	(1) Synthetic copolymer L-lactide and trimethylene carbonate; and (2) collagen conduit	SFI and CMAPs were significantly better in conduits filled with SDSCs; number of regenerated myelinated axons significantly greater in SDSC conduits; no significant difference in neurotrophic factor expression
	Walsh <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (12 mm gap)	D	Culture Medium	Direct injection into acellular freeze-thawed nerve graft	SKP-SCs maintained differentiation up to 8-wk; outcomes significantly improved in comparison to cell free grafts and comparable to cultured SCs; neurotrophic factor release greater in SKP-SCs
	Walsh <i>et al.</i>	Rat CP/tibial (Immediate vs chronic repair; no gap)	D	Culture Medium	Direct injection into distal nerve	Muscle weight and CMAPs superior in SKP-SC group in comparison to media injected controls; significantly higher counts of axon regeneration in SKP-SC group equivalent to immediate suture group
	Walsh <i>et al.</i>	Rat sciatic transection [acute vs chronic vs ANA (12 mm gap)]	U/D	Culture Medium	Direct injection into nerve ends and ANA	SKP-SCs maintained <i>in vivo</i> viability and differentiation better than uSKP; viability poorest in normal nerve, best in acutely injured nerve; SKP-SCs remain differentiated over time and myelinate axons; neuregulin able to prevent apoptosis following transplantation
	Khuong <i>et al.</i>	Rat sciatic and tibial (12 mm gap)	D	Culture Medium	Direct injection into ANA	SKP-SCs containing allografts resulted in superior functional and histological outcomes in both acute and delayed injury models compared with SCs and media controls

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación...)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Hair follicle	Amoh <i>et al.</i>	Mouse sciatic and tibial transection (no gap)	U	Culture Médium	Direct injection at site	HFSC transplanted nerves recovered significantly greater function compared with untreated nerves; GFP-labeled cells differentiated into GFAP positive schwann cells and were involved with myelination
	Amoh <i>et al.</i>	Mouse sciatic crush	U	Culture Médium	Direct injection at Site	HFSCs transplanted around crushed nerve differentiated into SC-like cells and participated in myelination; gastrocnemius muscle contraction significantly greater compared with untreated crushed nerves
	Amoh <i>et al.</i>	Mouse sciatic transection (2 mm gap)	U	Culture médium	Direct injection at site	HFSCs differentiated into GFAP expressing SCs and were able to myelinate axons; gastrocnemius muscle contraction significantly greater compared with untreated nerves
	Lin <i>et al.</i>	Rat sciatic transection (40 mm gap)	D	PBS	Direct injection into acellular xenograft	Differentiation into neurons and SCs maintained for 52-wk; number of regenerated axons, myelin thickness and ratio of myelinated axons to total nerve count significantly higher in dHFSCs compared with acellular grafts; conduction velocity slower in dHFSC nerves

Tabla 8. Resumen de la evidencia existente que evalúa la eficacia de diferentes tipos de células madre en la regeneración de los nervios periféricos. (Continuación)

Stem cell source	Author	Experimental model	Stem cell Diff.	Scaffold	Delivery system	Outcome
Induced pluripotent stem cell	Ikeda <i>et al.</i>	Mouse sciatic nerve (5 mm gap)	D	Microsphere seeded into conduit	Mixed PLA/PCL conduit +/- iPSC microspheres +/- bFGF	Regeneration was accelerated by combination of iPSCs + bFGF within conduits in comparison to iPSCs and bFGF alone; outcomes remained inferior to autograft controls; empty conduits performed least well
	Uemura <i>et al.</i>	Mouse sciatic nerve (5 mm gap)	D	Microsphere seeded into conduit	Mixed PLA/PCL conduit +/- iPSC microspheres	Motor and sensory recovery was superior in iPSC group at 4, 8 and 12 wk in comparison to empty conduits. Axonal regeneration superior in iPSC group. Conduit structurally stable after 12 wk
	Wang <i>et al.</i>	Rat sciatic nerve (12 mm gap)	D	Matrigel	PLCL/PPG/ sodium acetate copolymer electrospun nanofiber conduit	Conduits filled with either (1) matrigel; (2) matrigel + NCSCs differentiated from ESCs; and (3) matrigel + NCSCs differentiated from iPSCs; NCSC differentiated into SCs and integrated into myelin sheaths; electrophysiology and histology showed equivalent regeneration in all NCSC containing conduits; no teratoma formation observed after 1-yr

ADSC: Adipose derived stem cell; **ANA:** Acellular nerve allograft; **AFMSC:** Amniotic fluid derived mesenchymal stem cell; **BDNF:** Brain derived neurotrophic factor; **BDGF:** Brain derived growth factor; **bFGF:** Basic fibroblast growth factor; **BMSC:** Bone marrow derived mesenchymal stem cell; **CP:** Common peroneal; **C�AP:** Compound muscle action potential; **CSPG:** Chondroitin sulphate proteoglycan; **ChABC:** Chondroitinase ABC; **D:** Differentiated; **DMEM:** Dulbecco's Modified Eagle's Medium; **ECM:** Extracellular matrix; **EMG:** Electromyography; **ESC:** Embryonic stem cell; **FG:** Fluorogel; **GFAP:** Glial fibrillary acidic protein; **GDNF:** Glial cell derived neurotrophic factor; **G-CSF:** Granulocyte colony stimulating factor; **GFP:** Green fluorescent protein; **HA:** Hyaluronic acid; **HFSC:** Human fetal derived stem cell; **HBO:** Hyperbaric oxygen; **iPSC:** Induced pluripotent stem cell; **MSC:** Mesenchymal stem cell; **NCSC:** Neural crest stem cell; **NGF:** Nerve growth factor; **NMJ:** Neuromuscular junction; **NSC:** Nerve stem cell; **NT-3:** Neurotrophin-3; **PBS:** Phosphate buffered saline; **PCL:** Poly-ε-caprolactone; **PFTF:** Polytetrafluoroethylene; **PGLA:** Polyglycolic lactic acid; **PHB:** Polyhydroxybutyrate; **PLA:** Poly-L-lactide; **PLCL:** Poly(L-lactide-co-caprolactone); **PPG:** Polypropylene glycol; **SC:** Schwann cell; **SFI:** Sciatic function index; **SKP:** Skin derived precursor; **SKP-SC:** Skin precursor derived Schwann cell; **SDSC:** Skin derived stem cell; **U:** Undifferentiated; **USW:** Ultra-short wave therapy.

Tomado de (Fairbairn *et al.*, 2015)

Tabla 9. Estudios en animales con modelado de células madre derivadas de tejido adiposo y conductos para regeneración de nervios periféricos.

Animal studies modelling adipose derived stem cells and conduits for peripheral regeneration			Ref.
Animal models	Details	Measured outcomes	
Rat	Polycaprolactone conduit for 6 mm nerve gap	SNI, nerve thickness	Nectow <i>et al.</i> , 2012
Rat	Fibrin conduit 10 mm nerve gap	Axon regeneration	di Summa <i>et al.</i> , 2010
Rat	Polyhydroxybutyrate conduit 10 mm nerve gap	Axon regeneration	Erba <i>et al.</i> , 2010
Mouse	Nerve crush model and local administration ADSC ± matrigel	Axon regeneration	Lopatina <i>et al.</i> , 2011
Rat	Decellularised vascular conduit v autogenous nerve and vascular conduits containing ADSC	Axon regeneration, nerve conduction velocity	Sun <i>et al.</i> , 2011
Rat	Silastic conduit for 13 mm nerve gap	SNI, EPT, sensory nerve function	Scholz <i>et al.</i> , 2011
Rat	Silicon conduit ± collagen or ADSCs	Axon regeneration, nerve conduction velocity	Orbay <i>et al.</i> , 2012
Rat	Nerve crush model with systemic injection of ADSC	Axon regeneration, motor recovery	Marconi <i>et al.</i> , 2012
Rat	Genipin-Gelatin-Tricalcium phosphate conduit 10 mm nerve gap	SNI	Shen <i>et al.</i> , 2012
Rat	ADSC injected into repaired chronic denervated nerve	Axon regeneration, PFI	Tomita <i>et al.</i> , 2012
Rat	Microporous conduit for 15 mm nerve gap	Motor recovery	Dai <i>et al.</i> , 2013
Rat	Fibrin conduit for 10 mm nerve gap	Motor recovery, GAP-43 expression in dorsal root ganglion	Kingham <i>et al.</i> , 2014
Dog	Polytetrafluoroethylene tube and alginate hydrogel 17 mm nerve gap	Axon regeneration	Ghoreishian <i>et al.</i> , 2013

ADSC: Adipose derived stem cell; **SNI:** Sciatic nerve index; **GAP-43:** Growth associated protein.

Tomado de (Zack-Williams *et al.*, 2015)

Tabla10. Ensayos clínicos usando células madre para terapias en retina, actualmente en desarrollo, registrado en ClinicalTrials.gov.

Clinical trials using stem cell for retinal therapy currently registered on ClinicalTrials.gov

Injury or disorder	Sponsor	Type or source of cells	Delivery	Identification
Stargadt's, AMD (GA)	Advanced cell technology, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01469832
AMD (GA), RP, ischaemic Retinopathy	University of Sao Paulo recruiting	BMSC	Intravitreal injection	NCT01518127 NCT01560715 NCT01518842
AMD	Pfizer, ongoing	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01691261
AMD (GA), RP, RVO, DR	UC Davis recruiting	BMSC	Intravitreal injection	NCT01736059
Stargadt's, Fundus Flavimaculatus, Juvenile Macular Dystrophy	Advanced cell technology, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01469832
Retinal and optic nerve damage	Retinal associates of South Florida, recruiting	BMSC	Retrobulbar, subtenon and intravenous injection	NCT01920867
AMD	Advanced cell technology, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01344993
AMD	Al-Azhar University, recruiting	BMSC	Intravitreal injection	NCT02016508

Tabla 10. Ensayos clínicos usando células madre para terapias en retina, actualmente en desarrollo, registrado en ClinicalTrials.gov. (Continuación)

Injury or disorder	Sponsor	Type or source of cells	Delivery	Identification
RP	Chaitanya Hospital, recruiting	MSC	Not informed	NCT01914913
RP	Mahidol University, recruiting	MSC	Intravitreal injection	NCT01531348
Myopic Macular Degeneration	UC Los Angeles, ongoing	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT02122159
Best disease	Mayo Clinic, recruiting	iPSC RPE	Not informed	NCT02162953
AMD	CHA Bio and Diostech, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01674829
Stargadt's	Advanced cell technology, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01345006
Stargadt's	CHA Bio and Diostech, recruiting	hESC RPE	Subretinal transplantation	NCT01625559

Legends: **AMD**: Age related macular degeneration; **GA**: Geographic atrophy; **RVO**: Retinal vein occlusion; **DR**: Diabetic retinopathy; **SC**: Stem cells; **hESC RPE**: Human embryonic stem cells derived RPE; **iPSC**: Induced pluripotent stem cells; **BMSC**: Bone marrow stem cells; **RP**: Retinitis pigmentosa; **MSC**: Mesenchymal stem cells.

Tomado de (Garcia *et al.*, 2015)

Tabla 11. Células madre dentro del musculo esquelético. Localización, identificación y potencial.

Cell type	Location	Markers	Differentiation potential (in and in vivo)	Participation in muscle growth and maintenance	Muscle formation after transplantation	Satellite cell formation after transplantation	Systemically deliverable
Satellite cell	Underneath basal lamina of myofibre	Pax7+, CD34+, Myf5+ c-Met+, M-Cad+, $\alpha 7$ integrin+, syndecan3 and 4+, Caveolin1 +	Skeletal muscle	Yes	Robust	Yes	No
Pericyte	Outside endothelium of the blood vessel	ALP+, NG2+, PDGFR(5+, CD146+	Skeletal and smooth muscle, osteoblasts, adipocytes	Yes	Yes	Yes	Yes
PIC	Interstitial	Pax7-/PWI +	Skeletal and smooth muscle	Not determined	Equivalent to satellite cells	Yes	Not determined
MEC	Blood vessel associated	CD56+/CD34+ /CD 144+	Skeletal and cardiac muscle	Not determined	Robust, better endothelial cells and myoblasts	Not determined	Not determined
MDSC	Not known	Desmin+, MyoD+, CD34+, Sca-1 + Bcl-1+, CD45- and c-kit-	Skeletal and cardiac muscle, haematopoietic, osteogenic, endothelial and neuronal	Not determined	Robust	Not determined	Not determined

Tabla 11. Células madre dentro del musculo esquelético. Localización, identificación y potencial. (Continuación)

Cell type	Location	Markers	Differentiation potential (in and in vivo)	Participation in muscle growth and maintenance	Muscle formation after transplantation	Satellite cell formation after transplantation	Systemically deliverable
MAPC	Not known	Cd13+, CD44-, CD45-, MHC I - and 11-, c-kit-	Endothelium, neurons, glia. hepatocytes	Not determined	Limited	Not determined	Not determined
SP cell	Not known	Hoechst low	Muscle and haematopoietic	Not determined	Limited	Not determined	Yes
CD 133+ cell	Not known	CD 133+	Muscle	Not determined	Limited Robust, better than myoblasts	Yes	Yes
VSEL	Not known	Oct-4+, SSEA-4+, Nanog+, Sox-2+, Rex-1+, Tert+, GDI33+, CXGR4+	Haematopoietic, cardiomyocytes	Not determined	Not determined	Not determined	Not determined

Tomado de (Meng y Morgan, 2014)

Tabla 12. Revisión bibliográfica del seguimiento de células madre dentro del disco intervertebral en modelos animales.

Review of stem cell tracking in the intervertebral disc in animal models reported in the literature

Ref.	Animal model	Cell type	Label	Imaging	Results
Saldanha <i>et al.</i> , 2008	Rat tail (ex vivo)	Human MSCs (Loaded in fibrin gel-Tisseel)	FE-Pro (Feridex and Proatmine Sulphate)	3T MRI	No significant effect of labeling on MSC viability Hypointensity (signal loss) seen in discs injected with labeled cell
Prologo <i>et al.</i> , 2012	Porcine n = 4	Human MSCs	Iodine-124 2'fluoro-2'-deoxy-1b-D-arabinofuranosyl-5- iodouracil	PET/CT	Inaccurate delivery in 1 animal Three animals showed persistence and containment of labeled cells 3 d following injection
Barcze wska <i>et al.</i> , 2013	Porcine n = 1 (ex vivo) n = 3 (in vivo)	Porcine MSCs	Molday ION USPION	3T MRI	<i>Ex vivo</i> -Injected labeled cells clearly visualized <i>In vivo</i> -hypointense regions identified immediately following injection of labeled cells. Histopathology performed 2 wk later confirmed the presence of MSCs in the disc.

MSC: Mesenchymal stem cell; **MRI:** Magnetic resonance imaging; **USPION:** Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticle; **PET/CT:** Positron emission tomography/computed tomography.
Tomado de (Handley *et al.*, 2015)

Tabla 13 Resumen de algunos de los genes principales potencialmente envueltos en células madre de la pituitaria y actividad de los progenitores y/o de su diferenciación.

Gene name	Protein encoded	Main characteristic
<i>Transcriptions factors (TF)</i>		
<i>Sox2</i>	SRY-related HMG box TF	General stem cell marker; it is expressed in cells in the pituitary marginal zone
<i>Sox9</i>	SRY-related HMG box TF	Marker of the transition between pituitary stem cells/progenitors and transit-amplifying cells
<i>Prop1</i>	Paired-like homeodomain TF (Prophet of Pit 1)	It is expressed in pituitary marginal zone by pituitary progenitors
<i>Pou1f1(Pit1)</i>	POU homeodomain TF	It is involved in the differentiation of cells of somatolactotroph and thyrotroph lineages
<i>Octa4 (Pou5f1)</i>	POU homeodomain TF	Expressed in stem cells of several tissue
<i>Nanog</i>	Homeobox TF	Involved in maintaining stem cell pluripotency and self-renewal
<i>Hes1</i>	Basic helix-loop-helix TF	Notch direct downstream target and effector; it is a repressor of cell cycle inhibitors, expressed in S/G ₂ /M/G ₁ , but not in G ₀

Tabla 13 Resumen de algunos de los genes principales potencialmente envueltos en células madre de la pituitaria y actividad de los progenitores y/o de su diferenciación. (Continuación...)

Gene name	Protein encoded	Main characteristic
	<i>Cell cycle regulators</i>	
<i>Bmi1</i>	BMI1 polycomb ring finger oncogene	Regulates cell cycle inhibitor genes in stem cells from several tissues
<i>Cdk4</i>	Cyclin-dependent kinase 4	Involved in cell cycle G ₂ phase progression
	<i>Intermediate filament proteins</i>	
<i>Nestin</i>	Type VI intermediate filament protein	It is expressed in pituitary marginal zone as well as in progenitors from several tissues
GFAP	Glial fibrillary acidic protein (intermediate filament protein)	It is expressed in folliculo-stellate cells
<i>Cytokeratin 8 (Krt8)</i>	Keratin-containing intermediate filament protein	Expressed in pituitary marginal zone in adulthood, but not detected in SP

Tabla 13 Resumen de algunos de los genes principales potencialmente envueltos en células madre de la pituitaria y actividad de los progenitores y/o de su diferenciación. (Continuación)

Gene name	Protein encoded	Main characteristic
<i>Receptors, adhesion and cell surface proteins, and other genes</i>		
<i>E-cadherin (Cdh1)</i>	Calcium-dependent adhesion molecule (type 1 transmembrane protein)	It is involved in transition from proliferation to differentiation during EMT
<i>CD90</i>	Thyl or CD90 (cell Surface protein)	Marker of a variety of stem cells
<i>CXCR4</i>	Chemokine CXC-motif receptor 4	It is the receptor for the chemokine CXCL12 expressed by multiple stem cells or progenitors, including pituitary SP
<i>Gfra2</i>	GDNF receptor α 2	Stem cell marker in testis and ovary; it is expressed in pituitary marginal zone by the "GPS" cells
<i>Prom1</i>	PromininI (CD 133)	It is expressed by multiple stem cells or progenitors, including pituitary SP
<i>SIOOβ</i>	SIOO calcium binding protein β	Marker of pituitary folliculostellate cells
<i>Sca1</i>	Stem cell antigen I	It is expressed in SP cells and pericytes
<i>Notch1</i>	Notch 1	Transmembrane receptor involved in progenitor differentiation in CNS

Tomado de (Florio, 2014)

9. ANEXOS

ANEXO1. Información de Stemtech: A novel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from *Aphanizomenon flos-aquae* - potential role for stem cell biology in vitro and in vivo?



A novel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from *Aphanizomenon flos aquae* – potential role for stem cell biology in vitro and in vivo?

Introduction

The objective of this study was to evaluate the in vitro and in vivo effects of StemEnhance®, an extract from *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) enriched for a novel ligand for human L-selectin, on stem cell physiology. L-selectin is a cell adhesion molecules involved in cellular migration, cellular adhesion, and the retention versus release of bone marrow stem cells into the blood circulation. Stimulation of L-selectin leads to the externalization of pre-formed CXCR4 chemokine receptors, which are specific for the chemokine Stromal Derived Factor-1 (SDF-1) (Figure 1). Binding to SDF-1 to CXCR4 leads to the externalization of adhesion molecules that anchor the stem cell in the bone marrow. SDF-1 acts as a potent attractant for stem cells and therefore assists in retaining stem cells within the bone marrow environment.

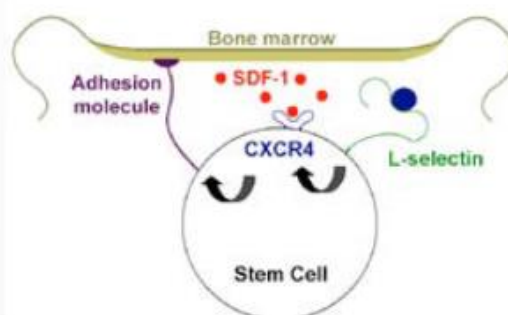


Figure 1

It was demonstrated that any interference with the CXCR4/SDF-1 axis is one of several contributing mechanisms involved in the release of stem cells from the bone marrow. Therefore, any compound that interferes with CXCR4 or SDF-1 has the potential of acting as a stem cell mobilizer.

There are many ways to support stem cell mobilization. For example, Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF), the natural compound in the body stimulating stem cell mobilization works at least in part by raising the level of specific proteolytic enzymes that degrade SDF-1, thereby disrupting the CXCR4/SDF-1 axis. Other compounds such as AMD-3100 promote stem cell mobilization by blocking CXCR4, once again disrupting the CXCR4/SDF-1 axis. Finally, L-selectin blockers reduce the density of CXCR4 on the surface of the stem cells' membrane, thereby down-regulating the CXCR4/SDF-1 axis. Due to the physiological processes involved in each of these mechanisms of action, the mobilizations triggered by each of these mechanisms show different magnitude, time of onset, and duration. Mobilization triggered by G-CSF and AMD-3100 begins within a few days, last for a few days and can lead to an increase in the number of circulating stem cells by up to 100-fold. Conversely, mobilization triggered by L-selectin blockers is more transient and of a much lesser magnitude. The mobilization observed after consumption of StemEnhance was rapid, transient and mild, therefore we hypothesized that AFA contained an L-selectin blocker.

Methods & Results

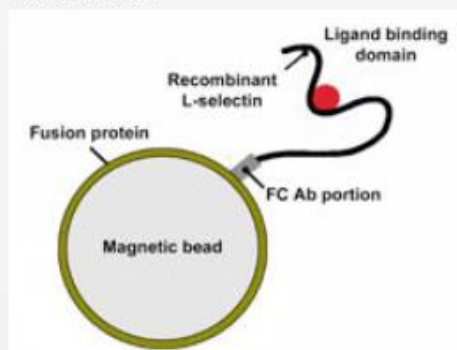


Figure 2

AFA contains a ligand for human L-selectin

In order to determine whether AFA contained an L-selectin ligand (binding molecule), paramagnetic Dynabeads coated with human L-selectin were incubated with a water extract of AFA (AFA-W) (Figure 2). After incubation, Dynabeads were washed and any bound material from the AFA extract was detached from the L-selectin molecules and run on gel-electrophoresis.

ANEXO1. Información de Stemtech: A novel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from *Aphanizomenon flos-aquae* - potential role for stem cell biology in vitro and in vivo? (Continuación...)

This process revealed that AFA contains an L-selectin ligand that appears to be a dimer made of two proteins having apparent molecular weights of 57 and 54 kDa respectively (Figure 3).

Using the same protocol on Spirulina, it was determined that Spirulina does not contain an L-selectin ligand.

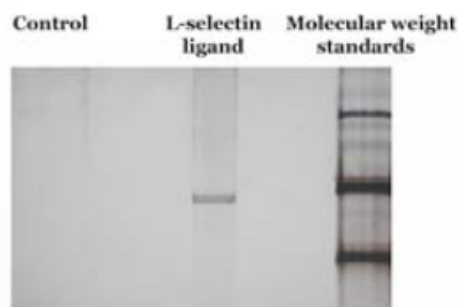


Figure 3

AFA-W specifically reduces TQ1 immunostaining of L-selectin on human PMN cells

L-selectin possesses one specific binding site whose activation leads to the externalization of CXCR4. In order to determine whether the L-selectin ligand present in AFA was binding to the active binding site of L-selectin, we tested the effect of AFA-W on the binding properties of TQ1 anti-human L-selectin monoclonal antibody. TQ1 is an antibody that specifically binds to the physiological active binding site of L-selectin. Incubation of lymphocytes with AFA-W reduced the binding of TQ1 by approximately 50-fold, indicating that the AFA L-selectin ligand does bind to the active binding site of L-selectin.

AFA-W inhibits the fucoidan-induced CXCR4 expression on CD34+ cells from bone marrow

It was important to determine whether the L-selectin ligand found in AFA was a stimulant or an inhibitor of L-selectin. We know that stimulation of L-selectin leads to an increase in the externalization of CXCR4, which can be quantified by measuring the density of CXCR4 receptors on the surface of stem cells. Incubation of bone marrow stem cells with AFA-W did not have any effect on CXCR4 density, indicating that the AFA L-selectin ligand was not a stimulant of L-selectin (Figure 4; green line).

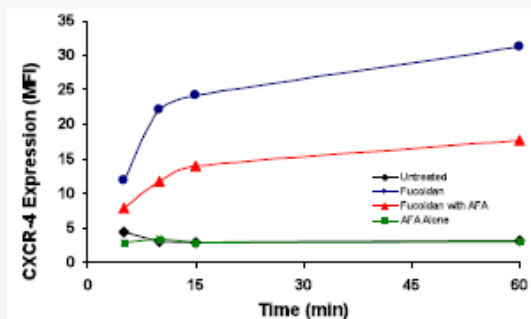


Figure 4

To investigate whether the ligand was a blocker of L-selectin we tested the effect of AFA-W on fucoidan-induced increase in CXCR4 density (Figure 4). Fucoidan is a sulfated polysaccharide known to stimulate L-selectin. Fucoidan triggered an 8-fold increase in CXCR4 density (blue line) which was inhibited (~50%) by incubation with AFA-W (red line). Therefore, AFA contains a blocker of L-selectin.

Consumption of StemEnhance® resulted in a transient increase of circulating CD34+ cells.

As previously described in the scientific literature, L-selectin blockers have the potential of being effective stem cell mobilizers by modulating the CXCR4/SDF-1 axis. Therefore, we tested the mobilizing ability of the AFA L-selectin ligand in humans. Using a double-blind cross-over paradigm, the level of circulating CD34+ stem cells was compared in 15 individuals before and after ingestion of 1 gram of StemEnhance® or placebo. StemEnhance® (Stemtech HealthSciences, Inc., CA) is a proprietary blend of the cytoplasmic and cell wall-rich fractions of the whole plant biomass, enriched approximately 5-fold in content of the L-selectin ligand compared to the raw AFA biomass.

ANEXO1. Información de Stemtech: A nobel cyanobacterial ligand for human L-selectin extracted from *Aphanizomenon flos-aquae* - potential role for stem cell biology in vitro and in vivo? (Continuación)



Consumption of StemEnhance® resulted in an average increase of 3-4 million circulating stem cells at 60 minutes ($p < 0.0001$) (Figure 5). The number of circulating CD34+ stem cells returned to baseline level around 3-4 hours after consumption. This was in contrast to placebo, which resulted in only minor fluctuations of the levels of CD34+ cells in the blood circulation over 2 hours.

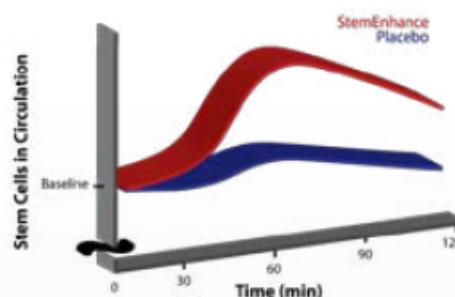


Figure 5

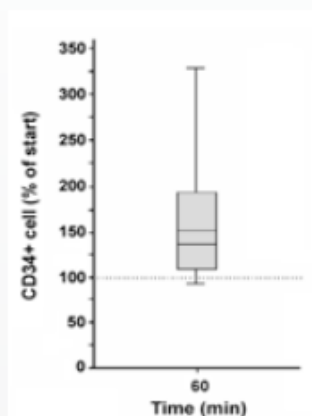


Figure 6

In order to test the repeatability of the effect of consumption of StemEnhance® on the levels of CD34+ cells in the peripheral blood, 16 separate experiments were performed on one volunteer. The average increase in the number of circulating stem cells was $53 \pm 16\%$, with a median of 36% and a highest and lowest increase of 233% and -4%, respectively (Figure 6).

Discussion

Dietary strategies for supporting stem cell biology represent an emerging field of nutritional and medical research. The cyanobacterium AFA has been studied for its anti-oxidant properties and immuno-modulatory effects both in human and in vitro. AFA contains a number of compounds that have been subject to much research, including the potent antioxidant phycocyanin, a complex polysaccharide with potent immuno-modulatory properties, and the neuromodulator phenylethylamine responsible for the experience of mental energy reported by consumers.

It is reported here that AFA also contains a novel compound that specifically binds to the ligand-binding area of human L-selectin. It is composed of two subunits with apparent molecular weight around 54-57 kDa. This ligand for human L-selectin, obtained from AFA water extract, was able to modulate the functional response on human lymphocytes in vitro. The expression of the chemokine receptor CXCR4, which is induced by the known L-selectin ligand fucoidan, was down-regulated when fucoidan and AFA water extract were added simultaneously, indicating that the L-selectin ligand from AFA was competing with fucoidan for binding to L-selectin.

A double-blinded placebo-controlled cross-over study showed that consumption of StemEnhance® resulted in a small but significant increase in the number of circulating CD34+ stem cells, peaking at 1 hour after consumption. The effect was statistically significant ($p < 0.0001$). There is however a significant fluctuation from one day to another in the effect of StemEnhance® or in the ability to quantify the effect accurately. Therefore, in order to test the nature of this fluctuation, we tested one individual on 16 different experimental days. The increase in the number of circulating stem cells after consumption of StemEnhance® averaged $52 \pm 16\%$ and varied greatly from 96% to 333% of baseline value. Interestingly, the average response in the one individual tested repeatedly and the average response to StemEnhance® in the double-blind randomized study involving 12 people were similar, indicating the relative consistency of the response and that the double-blind trial may in fact have understated the effect of StemEnhance®.

Recent studies have put in evidence the potential role of stem cell mobilizers in the maintenance of optimal health. Recently, a number of studies concluded that the level of circulating CD34+ stem cells was a good indicator of health.

ANEXO2. Información de Stemtech: A blend of and extract from *Aphanizomenon flos-aquae*, fucoidan from *Undaria pinnatifida* and an extract from *Polygonum multiflorum* leads to a significant mobilization of bone marrow stem cells.



A blend of an extract from *Aphanizomenon flos-aquae*, fucoidan from *Undaria pinnatifida* and an extract from *Polygonum multiflorum* leads to a significant mobilization of bone marrow stem cells.

Introduction

The effect of a proprietary extract of *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) on bone marrow stem cell mobilization was discovered after reports that consumption of AFA led to a broad variety of health benefits touching various aspects of human health. It was then hypothesized that an effect on bone marrow stem cell mobilization could offer a mechanism of action explaining the wide variety of benefits in various individuals. Testing revealed that AFA contained an L-selectin blocker and that an AFA Concentrate called StemEnhance® was able to trigger a significant release of stem cells from the bone marrow, as measured by an increase in the number of circulating stem cells.

Following this discovery and the development of StemEnhance, we investigated the effect on bone marrow stem cell mobilization of other plants historically associated with broad varieties of benefits touching various aspects of human health. Of these plants, two were found to support stem cell mobilization and to lead to a significant increase in the number of circulating stem cells: fucoidan from *Undaria pinnatifida* and *Polygonum multiflorum*.

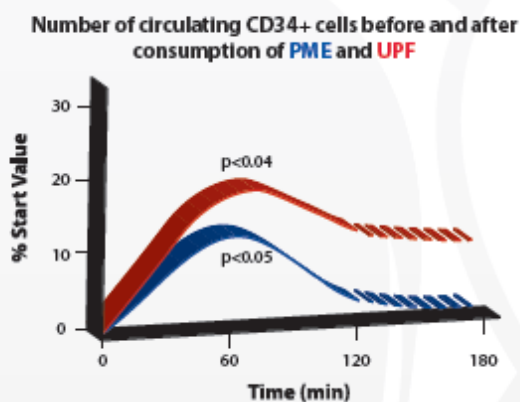
The objective of this study was to evaluate the effects of a product called SE2™, which is a blend made of an extract from the cyanophyta *Aphanizomenon flos-aquae*, fucoidan from brown seaweed *Undaria pinnatifida* (UPF) and an extract from the knotweed *Polygonum multiflorum* (PME) on the mobilization of bone marrow stem cells.

Methods & Results

Effect of UPF and PME on stem cell mobilization

Oral intake of UPF has already been documented to lead to a mild increase in the number of circulating stem cells after 2 weeks of daily consumption. In this study we tested, using a double-blind cross-over paradigm, the effect of UPF on stem cell mobilization by quantifying the number of circulating CD34+ stem cells 30, 60 and 120 minutes after ingestion of 250 mg of UPF or placebo.

Consumption of UPF triggered a significant increase in the number of circulating CD34+ stem cells which, contrary to AFA extract, was still significantly above baseline levels 2 hours after consumption. *Polygonum multiflorum* has been documented to support stem cell proliferation in vitro, however no effect in vivo has ever been reported. We documented that consumption of PME led to a transient but significant increase in the number of circulating CD34+ stem cells.

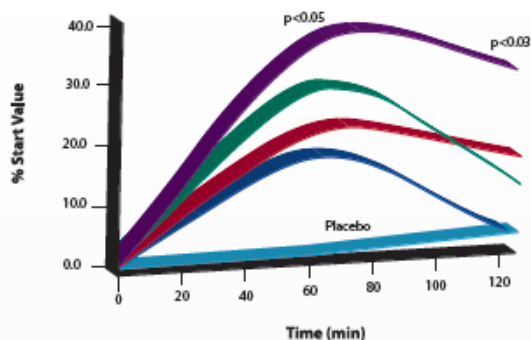


ANEXO2. Información de Stemtech: A blend of and extract from *Aphanizomenon flos-aquae*, fucoidan from *Undaria pinnatifida* and an extract from *Polygonum multiflorum* leads to a significant mobilization of bone marrow stem cells.
(Continuación)

Effect of SE2, a blend of AFA extract, UPF and PME on stem cell mobilization

It was hypothesized that blending AFA extract with UPF and PME could lead to an increase in the number of circulating stem cells that would be comparable to AFA extract alone but would last longer due to the effect of UPF. Consumption of SE2 actually revealed a synergistic effect between the ingredients with a greater maximum increase in the number of circulating stem cells after one hour and an effect that was still significantly above baseline levels 2 hours after consumption. The SE2 formula also contains Cordyceps sinensis, which was seen in preliminary trials to further enhance the effect of the formula.

Number of circulating CD34+ cells before and after consumption of SE, PME, UPF and SE2



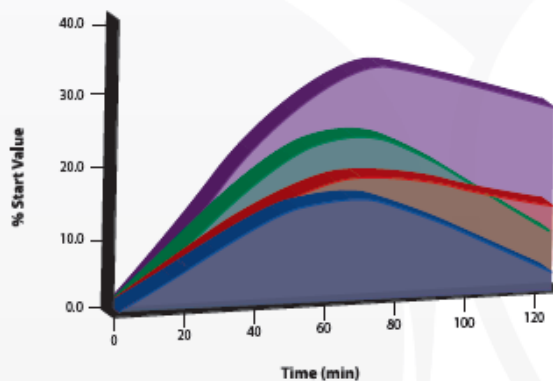
Discussion

Dietary strategies for supporting stem cell biology represent an emerging field of nutritional and medical research. We have previously documented that consumption of an L-selectin ligand rich extract of the cyanobacterium AFA leads to a significant increase in the number of circulating stem cells. Here we document in a double-blinded placebo-controlled cross-over study that two other natural compounds that have been historically associated with a broad range of health benefits also exert their health benefits, at least in part, by supporting stem cell release from the bone marrow.

Data pertaining to AFA extract was originally published by reporting the maximal increase in the number of circulating stem cells at approximately 60 minutes after consumption. However, this manner of reporting the data underestimates the actual total number of stem cells released from the bone marrow, which would be more accurately estimated by measuring the area under the curve. Using this approach reveals that even though the maximum increase in the number of circulating stem cells induced by UPF may be lower than the response obtained with AFA extract, the longer lasting effect could be associated with a larger total number of released stem cells. Likewise, using this approach reveals that the total number of released stem cells is significantly superior with SE2 than with AFA extract alone.

A growing body of scientific evidence suggests a direct link between health maintenance and the number of circulating stem cells; the higher the number of circulating stem cells, the greater the body's ability to maintain optimal health. This data also points to the potential role of stem cell mobilizers in health maintenance.

Number of circulating CD34+ cells before and after consumption of SE, PME, UPF and SE2



Anexo 3.

GLOSARIO

Aféresis: Técnica mediante la cual se separan los componentes de la sangre, siendo seleccionados los necesarios para su aplicación en medicina y devueltos al torrente sanguíneo el resto de componentes.

Angina de pecho: Es un dolor, generalmente de carácter opresivo, localizado en el área retroesternal, ocasionado por insuficiente aporte de sangre (oxígeno) a las células del músculo del corazón. Con frecuencia se asocia a la angina de pecho con un riesgo elevado de futuros episodios cardiovasculares fatales. Aunque un infarto agudo de miocardio puede ocurrir sin dolor.

Apoptosis: Es el proceso de destrucción o muerte celular programada, ordenado, provocada por ella misma, con el fin de autocontrolar su desarrollo y crecimiento, sin la producción de sustancias tóxicas, que está controlada por señales celulares genéticamente reguladas.

BrdU: Bromodesoxyuridina o **5-bromo-2-desoxiuridina**, es un nucleótido sintético análogo a la timidina, de fórmula molecular $C_9H_{11}BrN_2O_5$. Se trata de un nucleótido halogenado, debido al grupo bromuro incorporado en el quinto carbono de la cadena, formado por una base pirimidínica y el monosacárido ribosa, cuya analogía con la timidina permite una substitución casi total (entre el 99.8 y el 100%) de los nucleótidos de timidina en las células en fase de síntesis.

Bypass coronario: Cirugía de corazón, que se realiza cuando hay una obstrucción en una de las arterias coronarias que reduce el riego sanguíneo. Se hace un puente o derivación mediante el injerto de un segmento de vaso sanguíneo (o de una prótesis), mejorando la circulación sanguínea en la arteria coronaria afectada. Suele usarse una porción de vena prescindible de otra parte del cuerpo y se implanta un extremo antes y el otro después de la obstrucción de la arteria coronaria. Así se reestablece la circulación y se evita un daño grave por isquemia en un músculo tan importante como el corazón.

Células de Schwann: También llamadas neurolemocitos. Son células gliales que se encuentran en el sistema nervioso periférico que acompañan a las neuronas durante su mayor crecimiento y desarrollo de su función específica. Recubren a las prolongaciones (axones) de las neuronas formándoles una vaina aislante de mielina. A diferencia de los oligodendrocitos que se encuentran en el sistema nervioso central recubren los axones con su citoplasma y tienen origen embrionario en las células de la cresta neural.

Células Madre: O Células Progenitoras. Las *células madre* son un tipo especial de células que tienen una gran capacidad proliferativa, poder de renovarse y ser capaces de dar origen a diferentes tipos celulares especializados, todo lo cual las hace únicas. Se encuentran en el embrión, el feto y los adultos, tienen la capacidad de reproducirse a sí mismas por un período de tiempo prolongado. La pluripotencia es una de las características que las distingue.

Células Madre Adultas: Son células indiferenciadas que se encuentra en un tejido diferenciado, que se renuevan a sí mismas y también, según los requerimientos de ese tejido, se hace especializada para satisfacer las demandas y necesidades

funcionales y de conservación del conjunto al cual pertenece. Tienen la capacidad de reproducirse a sí mismas a lo largo de toda la vida del organismo, dando lugar a las células especializadas que forman los tejidos y órganos del cuerpo. Se encuentran en los individuos adultos. Son *multipotentes*.

Células madre embrionales: Se derivan de un grupo de células llamado la *masa celular interna*, que se forma en el blastocito entre los primeros 4 y 5 días del periodo de desarrollo embrionario son *totipotentes*.

Células madre germinales embrionarias: Se derivan del tejido fetal, específicamente de las células germinales primordiales de la cresta gonadal del feto de 5 a 10 semanas de evolución. Más tarde en el desarrollo, la cresta gonadal se desarrolla en los testículos o en los ovarios, y las células germinales primordiales dan lugar a óvulos o espermatozoides.

Célula madre pluripotente inducida: Es una célula tomada de cualquier tejido adulto que ha sido modificado genéticamente para comportarse como una célula madre embrionaria, con capacidad para formar todos los tipos celulares.

Células ovales: Localizadas en los canales de Hering, son células madre multipotenciales capaces de diferenciarse en hepatocitos así como a epitelio ductal y que poseen algunos antígenos comunes con células de médula ósea. Sin duda esta población celular tiene cierta capacidad de regeneración hepática, existen dudas, si realmente su origen está en el hígado o por el contrario derivan de células de la médula ósea.

Células Pluripotentes: Pluripotente, del latín *plures*, que significa muchos o varios; describe las células madre que pueden dar origen a progenitores que forman

cualquiera de las tres capas germinales embrionarias: mesodermo, endodermo y ectodermo. Para que una célula madre se considere pluripotente debe cumplir con: una única célula debe ser capaz de diferenciarse a progenitores especializados procedentes de cualquier capa embrionaria; demostrar la funcionalidad *in vitro* e *in vivo* de las células en las que se ha diferenciado; y, finalmente, que se produzca un asentamiento claro y persistente de éstas en el tejido blanco, tanto en presencia como en ausencia de daño en los tejidos en los cuales se injerta. Estas células se desarrollan aproximadamente en el cuarto día de la fertilización del óvulo y pueden diferenciarse a cualquier tipo celular, excepto a células totipotenciales y de la placenta.

Células Totipotentes: Totipotete, del latín totus, que significa completo; hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo (tejido embrionario y extraembrionario). Son las células más primitivas, producto inmediato de la fecundación con capacidad de diferenciarse hacia todos los tejidos que forman los órganos de un organismo.

Células unipotentes: Sólo pueden generar células diferenciadas a lo largo de una sola línea celular, tal como su nombre lo refiere, del latín *unus*: uno.

Citoquinas: O también conocida como Citocinas. Son proteínas de bajo peso molecular, que regulan la función celular, actúan como un sistema de comunicación entre células del cuerpo, inducen la activación de receptores específicos de membrana. Intervienen en la proliferación, diferenciación, movimiento y desplazamiento, supervivencia y muerte celular. Además están implicadas en la respuesta inmune, hematopoyesis, inflamación, cicatrización, reproducción celular,

gestación, crecimiento y mantenimiento de las células del Sistema Nervioso y metabolismo energético.

Disnea: Es una dificultad respiratoria que se suele traducir en falta de aire.

Enfermedades Huérfanas: O enfermedad rara. Es aquella que afecta a un pequeño número absoluto de personas o a una proporción reducida de la población. Por lo que tienen poco interés del mercado y de las políticas de salud pública, a pesar que varias pueden ser potencialmente mortales, crónicamente debilitantes y no tiene tratamientos adecuados.

Estroma: Es el almacén o entramado de un órgano, formado por la matriz extracelular, incluyendo los elementos celulares que la sintetizan. Es tejido conjuntivo reticular que constituye la matriz o sustancia fundamental de un órgano y sostiene los elementos celulares que lo conforman.

Ex vivo: (En latín: fuera de lo vivo) Se refiere a lo que tiene lugar fuera de un organismo. En ciencia, describe los experimentos o medidas realizados en o sobre tejidos biológicos de un organismo en un ambiente artificial fuera del organismo.

In vivo: "Que ocurre o tiene lugar dentro de un organismo". En ciencia, se refiere a experimentación hecha dentro o en un tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo.

In situ: Del latín, significa «en el sitio» o «en el lugar», generalmente se utiliza para designar un fenómeno observado en el lugar, o a una manipulación realizada en el sitio.

In vitro: Del latín: *dentro del vidrio*, hace referencia a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación *in vitro* es un ejemplo ampliamente conocido.

Isquemia: Detención o disminución de la circulación de sangre a través de las arterias de una determinada zona, que comporta un estado de sufrimiento celular por falta de oxígeno y materias nutritivas en la parte afectada.

Ligando: Una molécula que tiene la propiedad de unirse específicamente a otra molécula o receptor.

miRNA - Micro ARN: Es un ARN monocatenario, de una longitud de entre 21 y 25 nucleótidos, y que tiene la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos, utilizando para ello la ruta de ribointerferencia. Fueron descritos inicialmente en 1993 por Lee y colaboradores en el laboratorio de Victor Ambros, sin embargo el término "microARN" sólo se acuñó en 2001 en un conjunto de tres artículos publicados en. A principios de 2008, análisis computacionales realizados por IBM sugerían la presencia de alrededor de 50.000 miRNA diferentes en el genoma humano, cada uno tal vez con alrededor de miles de ARNm dianas potenciales.

Murino: Hace referencia a una subfamilia de roedores miomorfos perteneciente a la familia Muridae, que incluye a los comúnmente llamados ratones y ratas del viejo mundo. Incluye al menos 519 especies. Una especie ampliamente utilizada como organismo modelo en diversos campos de la Biología es el ratón de laboratorio *Mus musculus*.

Ontogenia: También llamada morfogénesis u ontogénesis, describe el desarrollo de un organismo, desde el óvulo fertilizado hasta su senescencia, pasando por la forma adulta. La ontogenia es la historia del cambio estructural de una unidad sin que ésta pierda su organización.

Perfusión: Introducción de un fármaco en el torrente sanguíneo dirigido a una zona concreta del cuerpo.

Prognosis: Viene del griego, Se trata del saber que se desarrolla con anticipación a un cierto acontecimiento. En medicina es la hipótesis del profesional respecto al desarrollo de una enfermedad, anticipando los síntomas que tendrá el paciente y estimar las probabilidades de la recuperación junto a su plazo.

Queratinocitos: Son las células predominantes (90%) de la epidermis, la capa más superficial de la piel. Contienen una proteína muy dura que se llama queratina, la cual estimula el crecimiento de células epiteliales en la piel y de las que revisten la superficie de la boca, el estómago y los intestinos.

Quiescente: Adjetivo, indica que está quieto, pudiendo tener movimiento propio.

Splicing. También llamado **corte y empalme**, **empalme** o **ajuste**, Es un proceso co-transcripcional de corte y empalme de ARN. Este proceso es muy común en eucariotas, pudiéndose dar en cualquier tipo de ARN aunque es más común en el ARNm. También se ha descrito en el ARNr y ARNt de procariotas y bacteriófago. También se emplea este término para un proceso similar que ocurre en proteínas y en el DNA.

Splicing alternativo: Es un proceso de edición post-transcripcional que se produce tras la obtención del ARN mensajero primario. En los genes de eucariotas no todo el ADN que se transcribe en el mensajero primario va a ser traducido. En los eucariotas existen regiones de ADN que no codifican aminoácidos, conocidas como intrones, que están flanqueadas por señales de inicio y de parada de la transcripción. Los fragmentos que sí van a codificar la secuencia de aminoácidos de la futura proteína son los exones. Distintas combinaciones de exones darán lugar a distintas isoformas de la proteína madura. La generación de las isoformas se lleva a cabo mediante el splicing alternativo. El splicing alternativo permite que en un mismo gen pueda estar codificada la información necesaria para sintetizar distintas proteínas ya que mediante este proceso a partir de un mismo mensajero primario pueden obtenerse varias secuencias de ARN mensajero maduro dependiendo de cuáles sean los exones que se combinen. El mecanismo de splicing alternativo es una de las maneras de originar distintas isoformas funcionales de una misma proteína en diferentes tejidos o compartimentos celulares.

Transdiferenciación: En biología tiene lugar cuando una célula que no es una célula madre se transforma en otro tipo diferente de célula, o cuando una célula madre ya diferenciada crea células fuera de su ruta de diferenciación ya establecida.

Transferencia nuclear: Consiste en tomar el núcleo de una célula e implantarlo en otra célula. Habitualmente se toma el núcleo de una célula diferenciada y se la coloca en un óvulo enucleado.



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
SECRETARÍA

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca
E-mail: fcen@puce.edu.ec
Telf.: PEX 2991-575
Fax: (593-2) 2991-725
Apartado 17-01-2134
Quito-Ecuador

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Daniel Ricardo Poveda Almeida, con CC. 1706876305, autor del trabajo de graduación intitulado: " Células madres adultas, su papel en los procesos de renovación orgánica y en el mantenimiento de la salud" , previa la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

- 1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
- 2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, abril 24 del 2015

C.C.1706876305